

Aus dem Departement für Nutztiere der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich  
Abteilung für Ambulanz und Bestandesmedizin

(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. U. Braun)

---

**Bakteriell kontaminierte Desinfektionsmittel und Gerätschaften beim  
Melkakt als mögliche Quelle für Mastitiden**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde  
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Simona Maria Sigrist**

Tierärztin

von Luzern

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. M. Hässig, Referent

Prof. Dr. R. Stephan, Korreferent

Zürich, 2010

Zentralstelle der Studentenschaft

Alla mia famiglia

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b>	5
<b>2. SUMMARY</b>	6
<b>3. EINLEITUNG</b>	7
<b>3.1. Problemstellung</b>	7
<b>3.2. Ziel und Fragestellung</b>	10
<b>4. LITERATURÜBERSICHT</b>	11
<b>4.1. Eutergesundheitsstörungen</b>	11
<b>4.1.1. Mastitis</b>	11
<b>4.1.2. Einteilung von Mastitiserregern</b>	14
<b>4.1.3. Besondere Mastitis verursachende Pathogene</b>	16
4.1.3.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
4.1.3.2. Koagulasenegative Staphylokokken	16
4.1.3.3. <i>Corynebacterium bovis</i>	20
<b>4.1.4. Risikofaktorenanalyse für die Entstehung von Mastitiden</b>	21
<b>4.2. Diagnostik</b>	25
<b>4.2.1. Einzeltierdiagnostik</b>	25
<b>4.3. Melkhygiene und ihre Grenzen</b>	26
<b>4.3.1. Zitzen- und Euterreinigung</b>	28
4.3.1.1. Zusatz von desinfizierenden Komponenten	30
<b>4.3.2. Zitzendippmittel</b>	31
4.3.2.1. Allgemeines zu Dippmitteln	31
4.3.2.2. Jodophore	33
4.3.2.3. Organische Säuren	35
4.3.2.4. Chlorhexidin	36

4.3.2.5. Quaternäre Ammoniumverbindungen	36
4.3.2.6. Hypochlorite	36
4.3.2.7. Dodecylbenzolsulfonsäure (DDBSA)	37
<b>4.3.3. Die Rolle der Melkanlage in der Melkhygiene</b>	<b>37</b>
<b>5. MATERIAL UND METHODIK</b>	<b>39</b>
5.1. Betriebe und Tiere	39
5.2. Melktechnik	40
5.3. Versuchsanordnung	40
5.4. Methodik	45
5.5. Zusammenarbeit mit anderen Instituten der Universität Zürich	48
<b>6. ERGEBNISSE</b>	<b>49</b>
6.1. Anzahl Stämme und Identifizierungsergebnisse	49
6.2. Zuteilung der Spezies auf Betrieb und Material	50
6.2.1 Betriebsanalyse	54
6.2.2. Melkmaterial	58
6.2.2.1. Eutertücher	58
6.2.2.2. Holzwolle/Hände	58
6.2.2.3. Dispenser	59
6.2.2.4. Zitzenbecher	59
6.2.2.5. Melkgeschirreinigungslösung	60
6.2.2.6. Zitzentauchmittel	60

<b>7. DISKUSSION</b>	62
<b>7.1. Vorkommen und Verteilung der verschiedenen CNS</b>	62
<b>7.2. Melkmaterial</b>	64
<b>7.2.1. Eutertücher</b>	64
<b>7.2.2. Holzwolle/Hände</b>	64
<b>7.2.3. Dispenser</b>	65
<b>7.2.4. Zitzenbecher</b>	65
<b>7.2.5. Zitzentauchmittel</b>	65
<b>8. SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	69
<b>9. LITERATURVERZEICHNIS</b>	70
<b>10. DANKSAGUNG</b>	82
<b>11. LEBENSLAUF</b>	83

# 1. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Studie wurden verschiedene Gerätschaften, Reinigungs- und Euterdesinfektionsmittel, welche beim Melken verwendet werden, auf Kontamination mit Koagulase negativen Staphylokokken (CNS) untersucht.

Ziel dieser Arbeit war es einen möglichen Zusammenhang zwischen dieser Kontamination und einer Euterinfektionen aufzuzeigen.

Zehn Betriebe mit der höchsten Mastitisrate aus dem Einzugsgebiet der Ambulanz der Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, wurden untersucht. Jeder Betrieb wurde fünf Mal besucht. Insgesamt wurden 344 Tiere einbezogen. Alle laktierenden Tiere, die nicht schon unter antibiotischer Behandlung waren, wurden vor dem Melken mittels Schalmtest untersucht. Von allen Kühen, die dabei positiv reagierten, wurde eine Viertelsgemelksprobe des betroffenen Viertels gewonnen. Mittels Tupferproben wurden Abstriche von der Holzwolke, den Papiertüchern, den Sitzendesinfektionstüchern, der Hände der Melker und vom Zitzenbecher entnommen. Zudem wurden verschiedenste Proben von Zitzentauchmitteln und Reinigungsmittel, -wasser entnommen.

Aus den Daten dieser Arbeit ergaben sich Hinweise, dass über Reinigungs- und Desinfektionsmittellösungen Erreger übertragen werden können, die zu Euterinfektionen führen. Die häufigsten CNS-Stämme in der Milch einzelner Kühe waren *S. saprophyticus*, *S. sciuri* und *S. chromogenes* während in Reinigungs-, Desinfektionsmitteln und bei Gerätschaften *S. fleuretii*, *S. vitulus*, *S. equorum*, *S. sciuri*, *S. haemolyticus*, *S. succinus* und *S. saprophyticus* nachgewiesen wurden.

## 2. SUMMARY

### **The role of bacterial contamination of milking utensils and disinfecting solutions in the pathogenesis of clinical mastitis in dairy cows**

Various instruments and utensils used during milking, as well as teat dip solutions, were examined for contamination with coagulase-negative staphylococci (CNS). The goal of this study was to investigate the relationship between contaminated fomites and udder infection in dairy cows. A total of 344 cows from ten dairy farms with the highest rate of clinical mastitis among the farms serviced by the Ambulatory Clinic of the Vetsuisse Faculty of the University of Zurich were included in the study. Each farm was visited five times. All lactating cows, with the exception of those undergoing antibiotic treatment, were examined immediately before milking using the California mastitis test, and a milk sample was collected from positive quarters. Items used to clean the udder, which included wood wool, paper towels and disinfecting towels, as well as the milker's hands and the teat dip cup were swabbed for bacteriological examination. Water samples and samples of teat dip and cleaning solutions were also collected and cultured. The results of this study indicated that cleaning and disinfecting solutions have the potential to transmit udder pathogens and cause clinical mastitis. The most common CNS isolated from quarter samples were *S. saprophyticus*, *S. sciuri* and *S. chromogenes*, and the most common CNS isolated from utensils and cleaning and disinfecting solutions were *S. fleuretii*, *S. vitulus*, *S. equorum*, *S. sciuri*, *S. haemolyticus*, *S. succinus* and *S. saprophyticus*.

### 3. EINLEITUNG

#### 3.1. Problemstellung

In zwei Milchviehbetrieben im Kanton Luzern, Schweiz, sind in den Jahren 2004 bis 2006 akute sowie chronische Mastitiden mit multiresistenten Erregern (v.a. Staphylokokken) aufgetreten. Verschiedenste Massnahmen zur Verbesserung der Euter- und Melkhygiene auf Bestandesebene führten zu keinem nachhaltigen Erfolg. Es bestand sogar die Tendenz, je mehr gereinigt und desinfiziert wurde, umso schlechter die Situation wurde.

Bei der Abklärung der Ursachen wurde festgestellt, dass das Zitzendesinfektionsmittel, welches vor dem Melken verwendet wurde, sowie das Zitzentauchmittel, welches nach dem Melken gebraucht wurde, aber auch die Euterdesinfektionstücher nach Gebrauch und die Melkgeschirreinigungslösung mit verschiedenen Keimen, darunter euterpathogene wie Staphylokokken und *E. coli*, stark kontaminiert waren.

Aufgrund dieser melkhygienisch möglicherweise relevanten Feststellung besteht die Möglichkeit, dass am Dispenser, in der Umgebung des Austritts der Eutertücher, in der Holzwolle oder in anderen trockenen Zitzenreinigern, in Bereichen mit verdünnter Konzentration an Desinfektionsmittel, sowie in den Zitzenbechern Bakterien vorhanden sein könnten, welche durch die Manipulation während des Melkens in die Zitzen gelangen und dadurch zu Mastitiden führen.

Weltweit werden grosse Anstrengungen unternommen, um Konzepte für eine Prophylaxe von Mastitiden auszuarbeiten. Euterentzündungen gehören neben Fruchtbarkeitsproblemen zu den häufigsten Erkrankungen beim Milchvieh (EGLI, 2007) und verursachen neben Jungtiererkrankung grosse ökonomische Verluste. Jede siebte Kuh wird wegen schlechter Eutergesundheit ausgemerzt. Hochgerechnet ergibt dies eine Kostenfolge für das Jahr 1997 von jährlich 260



Millionen Franken landesweit oder 350 Franken pro Kuh und Jahr (EICHER et al., 1997). Die durch eine Mastitis verursachten Kosten setzen sich aus den Verlusten bei der Milchleistung, den Milchpreisabzügen, einer möglichen Milchliefersperre, den Tierarzt-, Medikamenten- und Remontierungskosten zusammen (SEEGERS et al., 2003). Die Milch erkrankter Kühe kann aus zwei Gründen nicht abgeliefert werden. Einerseits aufgrund der Veränderung ihrer Zusammensetzung und andererseits durch die Kontamination mit Antibiotika infolge der Behandlung. Bei Rohmilchprodukten besteht zudem durch gewisse Mastitiserreger ein milchhygienisches Problem.

Grund für eine geringere Milchleistung ist die Entzündung des Drüsengewebes. Die betroffenen Kühe erreichen nicht mehr ihre maximale Leistung. Man erwartet beim Einzeltier, dass pro Verdoppelung der Zellzahl ab 150'000/ml Milch, 0.8 Liter weniger Leistung entsteht. Auf Bestandesebene ergibt sich pro 100'000 Zellen/ml Milch über 150'000, 1.5% weniger Leistung (ANONYM, 2008). Bei der Bekämpfung von Mastitiden auf Bestandesebene ist es wichtig, dass prädisponierende Faktoren im Bestand eliminiert werden, da die Behandlung einzelner Tiere als einzige Massnahme nicht genügt. Eine entscheidende Rolle in der Prävention von Euterentzündungen spielt dabei die Melkhygiene (FELDMANN et al., 2006).

Gemäss der Verordnung über die Qualitätssicherung bei der Milchproduktion (VQSMP) sind die Euter vor dem Melken mit Einwegreinigungsmaterial (trocken mit Holzwolle oder Euterpapier; feucht mit Euterhygienepreparaten) oder mittels einer Euterdusche zu reinigen. Bei nasser Euterreinigung ist das Euter mit Einwegmaterial zu trocknen. Das Wasser für die Euterreinigung muss bakteriologisch einwandfrei sein (ANONYM, 1996).

In der Verordnung über die Hygiene bei der Milchproduktion (VHyMP) wird vorgegeben, dass die Zitzen, das Euter und die angrenzenden Körperteile vor Melkbeginn sauber sein müssen (ANONYM, 2005).

Die Autoren McKinnon (1973 und 1983) und Pankey (1989) sind der Meinung, dass die Anwendung effektiver Reinigungs- und Desinfektionsmassnahmen während der Melkzeit der Mastitisprophylaxe dient.

Die Abteilung Ambulanz und Bestandesmedizin der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich empfiehlt Problembetrieben u. a. nach der Vorreinigung des Euters die Zitzen zusätzlich mit desinfizierenden Einwegpapiertüchern zu reinigen, um die Keimzahl auf der Zitzenhaut zu reduzieren. Anstelle der Papiertücher kann auch Holzwolle, mit zugelassenen Desinfektionsmitteln benetzt, eingesetzt werden. Nach dem Abnehmen der Melkzeuge sollten die Zitzen sofort in eine ausreichend konzentrierte Dipplösung getaucht werden.

Der National Mastitis Council (NMC) empfiehlt in seinem Mastitis Kontrollprogramm die Zitzen vor dem Melken mit einer desinfizierenden Lösung für mindestens 10-20 Sekunden zu waschen und danach mit Einwegtüchern oder Papier gut abzutrocknen.

Nach dem Melken sollen die Zitzen mit desinfizierenden Zitzentauchmitteln behandelt werden.

Die Zitzentauch-Kommission des NMC bestätigt den Nutzen von Zitzendesinfektions-Konzentraten. Diese müssen aber vom Hersteller getestet werden, sodass sie nach dem Anfertigen der Fertigmischung auf dem Betrieb wirksam bleiben (NICKERSON, 2001).

Die Wahrnehmung der Bedeutung der Zitzendesinfektion vor dem Melken hat in der Schweiz in letzter Zeit zugenommen.

### **3.2. Ziel und Fragestellung**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, anhand einer klinischen Querschnittsstudie die Häufigkeit von kontaminierten Desinfektionsmitteln und Gerätschaften beim Melkakt aufzuzeigen und einen möglichen Zusammenhang zwischen dieser Kontamination und Euterinfektionen in einem Bestand zu bestimmen.

In der vorliegenden Arbeit standen im einzelnen folgende Fragen zur Diskussion:

- Besteht die Möglichkeit der Kontamination von geöffneten und im Betrieb gelagerten Desinfektionsmitteln?
- Können die Keime auf Zitzentüchern, in Zitzentauchlösungen, auf Zitzenbechern, in Holzwolle und in der Melkgeschirreinigungslösung auch in Mastitismilchen einzelner Kühe auf den Betrieben gefunden werden?

## **4. LITERATURÜBERSICHT**

### **4.1. Mastitis**

#### **4.1.1 Definitionen und Einteilungen**

Die Mastitis ist eine entzündliche Erkrankung der Milchdrüse in der Gesamtheit ihrer milchbildenden, speichernden und ableitenden Abschnitte (WENDT et al., 1994). Sie wird durch eine Vielzahl von Infektionserregern hervorgerufen, die exogen über den Strichkanal in das Euter eindringen. Nach der rasanten Vermehrung der Mastitiserreger reagiert der Körper mit einer Entzündung. Je nach Art und Menge der eingedrungenen Mikroorganismen, der Umwelt in der die Kuh gehalten wird und dem Immunstatus der Kuh kommt es zu einer unterschiedlichen Ausprägung der Entzündung (TSCHISCHKALE, 2002). Die weltweit anerkannte Definition der Diagnose Mastitis basiert auf dem zytobakteriologischen Befund für Viertelgemelksproben von Tieren in normaler Laktation aus dem Anfangsgemelk nach Beseitigung des Vorgemelks (DVG, 2002). Die Definition von Mastitis wird von der International Dairy Federation (IDF), datiert 1967, mit einem somatischen Zellgehalt der Milch über 500'000 Zellen/ml Milch im Euterviertelanfangsgemelk und dem Nachweis von euterpathogenen Erregern angegeben (HILLERTON, 1999). Die Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft schlägt auf Grundlage der Erkenntnisse von Hess und Egger (1969) sowie Reichmuth (1975), für den physiologischen Zellgehalt einen Grenzwert von 100'000 Zellen/ml Milch vor (Tab.1). Die Autoren sind der Meinung, dass bei diesem Wert die normale zelluläre Abwehr in eine entzündliche Reaktion überzugehen beginnt (PALLAS, 2002).

Tab.1. Mastitisdiagnostik anhand des somatischen Zellgehaltes der Milch (DVG,2002)

Zellgehalt/ml Milch	Euterpathogene Mikroorganismen	
	nicht nachgewiesen	nachgewiesen
< 100.000	normale Sekretion	latente Infektion
> 100.000	unspezifische Mastitis	Mastitis

Neben den infektiösen Ursachen einer Zellzahlerhöhung, sind die in der Tabelle 2 zusammengestellten physiologischen Ursachen für eine Erhöhung der Zellzahl der Milch verantwortlich.

Tab.2. Physiologische Einflüsse auf den Zellgehalt der Milch nach Falkenberg (2002); WENDT et al., (1998) und KLAAS, (2000)

Faktor	Auswirkung
Rasse <sup>1</sup>	Keine Bedeutung
Laktationsstadium <sup>1,2</sup>	Hoher Zellgehalt im Kolostrum Niedriger Zellgehalt in der Milch nach der Kolostralphase Kontinuierlicher Anstieg im Laktationsverlauf
Laktationsanzahl <sup>2</sup>	Kontinuierliche Zunahme der Zellzahl mit dem Laktationsalter
Melkfrequenz <sup>1</sup>	Kein Einfluss bei bis zu viermal täglichem Melken
Milchleistung <sup>2</sup>	Negative Korrelation zw. Milchleistung und Zellzahl
Brunst <sup>1</sup>	Kurzzeitige (ein bis zwei Melkzeiten), reversible Erhöhung der Zellzahl
Futterumstellung <sup>1</sup>	Zwei bis vier Melkzeiten erhöhte Zellzahlen
Tiergruppenveränderungen <sup>1</sup>	Bei einzelnen Tieren leichte Zellzahlerhöhung

<sup>1</sup> WENDT et al., 1998

<sup>2</sup> KLAAS, 2000

Zur Bewertung der Eutergesundheit wurden von der DVG (2002) in Anlehnung an die International Dairy Federation (1999) folgende Definitionen herausgegeben:

*Normale Sekretion:* Keine äusserliche pathologische Veränderung des Euterviertels, normaler Zellgehalt und Abwesenheit euterpathogener Mikroorganismen.

*Latente Infektion:* Anwesenheit pathogener Erreger bei normalem Zellgehalt.

Man unterscheidet zwischen subklinischen und klinischen Euterentzündungen.

*Subklinische Mastitis:* Entzündung des Euters ohne äusserlich erkennbare Symptome, aber mit erhöhtem Zellgehalt und veränderter chemischer Zusammensetzung der Milch. In zwei von drei mikrobiologischen Untersuchungen können euterpathogene Erreger nachgewiesen werden.

Klinische Mastitiden lassen sich wiederum in folgende zwei Erscheinungsformen gliedern:

*Akute Mastitis:* Tritt plötzlich auf und ist gekennzeichnet durch Rötung, Schwellung, Schmerz, Temperatur und eingeschränkte Funktion. Die Milch ist grobsinnlich verändert. Oft sind systemische Reaktionen wie Fieber bis hin zur Septikämie möglich.

*Chronische Mastitis:* Langfristiges Entzündungsgeschehen mit ungestörtem Allgemeinbefinden des Tieres, gekennzeichnet durch eine Proliferation des bindegewebigen Anteils der Milchdrüse. Betroffene Viertel können auch atrophieren und die Milchproduktion einstellen. Chronische Mastitiden können zeitlebens subklinisch oder alternierend zwischen klinisch und subklinisch verlaufen.

*Unspezifische Mastitis:* Mastitiserreger nicht nachweisbar trotz Vorliegen von subklinischen Befunden und/oder klinischen Symptomen.

#### 4.1.2. Einteilung von euterpathogenen Erregern

Mastitiden werden hauptsächlich durch Infektionserreger hervorgerufen (BRADLEY, 2002; KROEMKER, 2005). Die meisten gehören zu den Bakterien, wenige zu Pilzen und selten zu Algen (SCHULZ et al., 1994). Wenige Beschreibungen von Virusmastitiden liegen ebenfalls vor (WENDT, 1994).

Pathophysiologisch und epidemiologisch werden euterpathogene Erreger in drei Klassen eingeteilt: Kontagiös, umweltassoziiert und opportunistische Euterbesiedler (SMITH und HOGAN, 2001; RADOSTITS et al., 2008).

Weiter werden die Infektionserreger entsprechend ihrer Bedeutung für die Pathologie des Euters in „Minor Pathogens“ und „Major Pathogens“ gegliedert. Zur Gruppe der „Minor Pathogens“ gehören *Corynebacterium bovis* und Koagulase negative Staphylokokken (CNS), die i.d.R. nur subklinische, selten auch klinische Mastitiden verursachen, während die übrigen verantwortlich für klinische Mastitiden (RADOSTITS et al., 2008), als „Major Pathogens“ zusammengefasst werden (Tab.3; HARMON, 1994; WENDT et al., 1994; SMITH und HOGAN, 1995a). *Minor pathogens* üben zum Teil einen protektiven Effekt gegen Infektionen mit Major Pathogens aus (LAM et al., 1997).

Tab.3. Kontagiöse und umweltassoziierte Mastitiserreger (modifiziert nach Smith und Hogan 1995).

Gruppe	Ursachen	Erreger
Kontagiös	Infektion mit kontagiösen Bakterien während der Melkzeit	<i>S. aureus</i> ; <i>Sc. agalactiae</i> ; <i>Sc. dysgalactiae</i> ; <i>C. bovis</i> ; <i>Mycoplasma</i> spp.
Umwelt-assoziiert	Infektion mit Bakterien aus der Umwelt der Kühe während der Zwischenmelkzeit	<i>Sc. uberis</i> ; <i>Sc. dysgalactiae</i> ; <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp; <i>Serratia</i> spp.; <i>Enterobacter</i> spp.; <i>Proteus</i> spp.; <i>Citrobacter</i> spp.; <i>Pseudomonas</i> spp.; <i>A. pyogenes</i> ; <i>Nocardia</i> spp.; <i>Bacillus</i> spp.; Hefen; Pilze; Algen; Viren
Hautflora		Koagulase neg. Staph. (CNS)

Kontagiöse Erreger werden auch euterassoziierte Erreger genannt und zeichnen sich durch eine gute Adaptation an das Euter aus. Ein gemeinsamer Virulenzfaktor, den die meisten kontagiösen Pathogene besitzen, ist die Fähigkeit an der mukösen Oberfläche zu haften (SMITH und HOGAN, 1995b). Die Übertragung der kontagiösen Erreger erfolgt während des Melkens von Euter zu Euter und von Viertel zu Viertel (NEAVE et al., 1969; SMITH et al., 1985; SMITH und HOGAN, 1995b), durch das Melkzeug sowie durch die Hände des Melkpersonals und/oder Eutertücher (FOX und GAY, 1993). Über diese Infektionswege gelangen die Bakterien auf die Zitzenhaut und in den Bereich der äusseren Strichkanalöffnung. Von dort können sie durch Lufteinbrüche beim Melken oder Kapillarkräfte weiter in die Zitze eindringen (TSCHISCHKALE, 2002; KROEMKER, 2005). Kontagiöse Erreger haben oft keine starken pathogenen Eigenschaften. Aus diesem Grund bleibt die entstehende Mastitis am Anfang unerkannt und verläuft häufig subklinisch mit Erhöhung der Tankmilchzellzahl (HARMON, 1994).

Die Umwelterreger haben ihr Reservoir im Umfeld der Tiere (Boxeneinstreu, Laufflächen etc.). Ihre Übertragung findet vor allem im Stallbereich statt (KROEMKER, 2005). Sie gelangen im Allgemeinen über die Umwelt in das Euter, wenn der Strichkanal offen ist und zwar während oder kurz nach dem Melken oder nach einer Zitzenverletzung (BRADLEY, 2002). Gemäss den Autoren Smith und Todhunter (1985) findet die Erreger-Exposition während der Zwischenmelkzeit statt und ist nicht auf die Melkzeit begrenzt. Die Verbreitung dieser Erreger ist also von hygienischen Faktoren abhängig. Umweltpathogene verursachen klinische, subklinische und latente Euterentzündungen. Bei mehr als 50% der Streptokokken-Infektionen zeigten die Kühe in Untersuchungen keine klinischen Symptome (SMITH et al., 1985). Vor allem in gut geführten Betrieben mit niedriger Zellzahl traten Probleme auf, umweltassoziierte Mastitiden unter Kontrolle zu halten (BRADLEY, 2002). Schalm und Mitarbeiter (1964) bewiesen, dass eine erhöhte Zellzahl in einem Viertel dieses vor Infektionen mit Coliformen



bewahren konnte. Nach Baumgärtner (1996) treten in Stallungen mit haltungshygienischen Mängeln vermehrt Euterinfektionen mit umweltassoziierten Pathogenen auf. Diese sind durch melkhygienische Massnahmen kaum beeinflussbar (WENDT et al., 1998).

#### **4.1.3. Besondere Mastitis verursachende Pathogene**

##### **4.1.3.1. *Staphylococcus aureus***

In der Schweiz wurden 1996 bei subklinischen Mastitiden in knapp 59% der Fälle Staphylokokken (davon 68% *Staphylococcus aureus*) isoliert und in jeder vierten Ablieferungsmilch wurden vermehrt Staphylokokken nachgewiesen (EICHER et al., 1997). *S. aureus* wurde von Haut, Schleimhaut und Wunden von Menschen und Tieren isoliert. Er besitzt zahlreiche Pathogenitätsfaktoren. Bestimmte Typen von *S. aureus* sind virulenter oder infektiöser und zeigen eine ausgeprägtere Persistenz als andere (LARSEN et al., 2000). Larsen und Mitarbeiter (2000) untersuchten *S. aureus* Stämme von neun Herden über einen Zeitraum von 1.5 bis 2 Jahren geno- und phänotypisch. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass verschiedene Typen von *S. aureus* Stämmen unterschiedliches epidemiologisches Verhalten zeigten. So klassifizierten sie einige prädominante Typen als euterassoziiert. Dabei handelte es sich um Stämme, die sich während des Melkens schnell von Viertel zu Viertel verteilten. Sie stellten fest, dass diese Stämme nicht effizient durch Kontrollprogramme aus der Herde eliminiert werden konnten. Andere Typen zeigten wenig oder keine Tendenz sich in einer Herde zu verbreiten. Ähnliche Feststellungen konnten in einer Studie in Bern (Schweiz) durch die Charakterisierung von Stämmen mittels PCR (Polymerase Kettenreaktion) bestätigt werden (GRABER et al., 2009).

##### **4.1.3.2. Koagulase negative Staphylokokken**

Koagulase negative Staphylokokken (CNS) sind von Haut und Schleimhäuten bei Mensch und Tier isoliert worden, da die meisten zu deren normalen Hautflora

gehören (NAGASE et al., 2002). Früher glaubte man, dass koagulase negative Staphylokokken für Mensch und Tier generell apathogen sind (PETERS und PULVERER, 1988). Aufgrund entsprechender klinischer Erfahrungen hat man diesen Standpunkt vor einigen Jahren revidiert. Einige Spezies können latente, subklinische und milde klinische Euterentzündungen verursachen (TAPONEN et al., 2007). Nur 7% der Kühe mit CNS Mastitis zeigen systemische Symptome (TAPONEN et al., 2008). Verschiedene Studien zeigen, dass CNS immer öfter aus boviner, capriner und oviner Milch und anderen Milchprodukten isoliert werden können (GUTIERREZ et al., 1990; DEINHOFER und PERNTHANER, 1995; RAJALA-SCHULTZ et al., 2004; TAPONEN et al., 2006; THORBERG, 2008). In der Mastitisdiagnostik werden CNS nicht auf Spezies Ebene identifiziert, sondern als uniforme Gruppe behandelt. Innerhalb derselben Spezies unterscheiden sich die verschiedenen Subspezies in ihrer Virulenz zum Teil erheblich (DORDET-FRISONI et al., 2007).

Die Qualitätsanforderungen von Rohmilch sind hoch und der Preis von Tankmilch ist oft korreliert mit der somatischen Zellzahl (SCC). In der Schweiz beträgt die Anforderung an die somatische Zellzahl für den besten Tankmilchpreis  $SCC < 350'000$  Impulse/ml und eine Keimzahl von  $< 80'000$ /ml. Milchproduzenten bemühen sich sehr, den SCC in der Milch tief zu halten. Nach Leavens (1997) und Wendt (1998) verursachen CNS oft Mastitiden, welche meist subklinisch verlaufen, mit einer reduzierten Milchleistung und moderatem Zellzahlanstieg. Gemäss Taponen und Mitarbeiter (2007) beträgt der mittlere Wert auf Kuhebene von SCC im Viertel mit einer CNS persistierender Infektion 355'400 Zellen/ml. Der mittlere Wert im Viertel mit einer transienten CNS Infektion beträgt 133'500 Zellen/ml. Widersprüchliche Ergebnisse bezüglich der Assoziierung von CNS IMI und Milchproduktion wurden vorgestellt. Alte Studien beschreiben keine (EBERHART et al., 1982) oder eine negative (TIMMS und SCHULTZ, 1987) Korrelation zwischen solchen Euterinfektionen und der Milchproduktion. Später

fanden Gröhn und Mitarbeiter (2004), dass multiparae Kühe vor dem Ausbruch der Infektion eine höhere Milchproduktion aufwiesen als eutergesunde Kühe.

In vielen Ländern sind CNS die am häufigsten vorkommenden Mastitispathogene in modernen Milchviehbetrieben (PANKEY et al., 1991; WAAGE et al., 1999; SMITH und HOGAN, 2001). Taponen (2008) berichtet in ihrer Arbeit über eine stark unterschiedliche Prävalenz von CNS Infektionen. Die Erklärung liegt in der unterschiedlichen diagnostischen Methode, welche einen direkten Vergleich zwischen den verschiedenen Studien erschwert. In diversen Arbeiten wurden aus subklinisch entzündeten Eutern von Färsen und Erstkalbinnen vorwiegend CNS isoliert (TRINIDAD et al., 1990; AARESTRUP und JENSEN, 1997; WAAGE et al., 1999; RAJALA-SCHULTZ et al., 2004; TAPONEN et al., 2006; TAPONEN et al., 2007). In zwei weiteren Studien aus der Schweiz und Estland betrug die Prävalenz von CNS im Viertelgemelk 28.9% auf Kuhebene, 65% der subklinischen CNS IMI auf Betriebsebene (ROESCH et al., 2007) bzw. 4.5% auf Viertelebene (HALTIA et al., 2006). Die Haltung und das Leistungsniveau der Kühe scheinen eine wichtige Rolle auf die Prävalenz von CNS Infektionen zu spielen. Zum Beispiel zeigen Färsen mit vorwiegender Weidehaltung eine niedrige CNS IMI Prävalenz (COMPTON et al., 2007) und Kühe mit hoher Milchleistung weisen öfters CNS IMI auf (GRÖHN et al., 2004). Gemäss der Mehrheit der Studien, scheint die Prävalenz der CNS IMI bei Erstkalbinnen 2- oder 3-fach höher zu sein als bei älteren Kühen (HARMON und LANGLOIS, 1989; MATTHEWS et al., 1992; TAPONEN et al., 2007). In der Studie von Taponen (2007) persistierten die Hälfte der CNS Infektionen während der ganzen Laktation. Sowohl persistente wie auch transiente CNS Infektionen verursachten eine immunologische Reaktion im Euter, die zu einer Zellzahlerhöhung führte. Wie schon erwähnt, üben *Minor pathogens* einen protektiven Effekt gegen Infektionen mit *Major Pathogens* aus (PANKEY et al., 1985; LAM et al., 1997; BARKEMA et al., 1999; BRADLEY, 2002; DE VliegHER et al., 2004), aber dieser Effekt konnte für CNS in verschiedenen Studien nicht so gut nachgewiesen

werden wie im Falle von *C. bovis* (LAM et al., 1997; SCHUKKEN et al., 1999; ZADOKS et al., 2001). Man vermutet, dass diese Schutzwirkung auf der mit einer CNS-Infektion einhergehenden Erhöhung der somatischen Zellzahl in der Milchdrüse basiert (MATTHEWS et al., 1991). 50% der Viertel mit einer CNS Infektion vor oder zum Zeitpunkt der Geburt war selbstlimitierend und ist im Verlauf der Laktation spontan abgeheilt (TAPONEN et al., 2007). In einer deutschen Studie über 298 bovine subklinische Mastitiden mit CNS Nachweis wurden Isolate der Spezies *S. chromogenes* (33,2%), *S. simulans* (23,2%), *S. epidermidis* (11,7%) sowie *S. xylosus* und *S. haemolyticus* (je 9,4%) am häufigsten nachgewiesen (LUTHJE und SCHWARZ, 2006), was mit anderen Studien übereinstimmt (AARESTRUP et al., 1995; TAPONEN et al., 2006).

*S. chromogenes* wurde von boviner Euterhaut sowie im Zitzenkanal und Milchsekret von frisch abgekalbten Färsen und laktierenden Kühen isoliert (AARESTRUP und JENSEN, 1997; TAPONEN et al., 2008; THORBERG, 2008), wobei die höchste Prävalenz für *S. chromogenes* IMI bei erstlaktierenden Kühen beschrieben wurde (RAJALA-SCHULTZ et al., 2004; TAPONEN et al., 2006; THORBERG, 2008). Diese Spezies wurde aber auch in anderen Körperteilen wie Nasenhöhlen, Schwanzhaare und Vagina (WHITE et al., 1989) isoliert.

*S. epidermidis* kommt auf der gesamten menschlichen Körperoberfläche vor und überwiegt in der Hautflora (KLOOS, 1980), ist aber kaum in der bovinen Hautflora vorhanden (WHITE et al., 1989). Trotzdem besitzt *S. epidermidis* bei einigen Säugetierspezies wie Rindern (BIRGERSSON et al., 1992; TAPONEN et al., 2006; THORBERG, 2008), Ziegen und Schafen (DEINHOFER und PERNTHANER, 1995) eine Bedeutung als Mastitiserreger.

Thorberg und Mitarbeiter (2006) verglichen *S. epidermidis*-Isolate von bovinen Mastitiden mit denen, die auf den Händen von Melkern gefunden wurden. Dabei wurden Stämme gefunden, die sowohl in der Milch als auch auf den Händen der Melker vorkamen.

Eng verwandt mit *S. epidermidis* ist *S. haemolyticus*. Dieser gehört wie andere CNS zur Normalflora der Haut und der Schleimhäute des Menschen und anderer Säugetiere. Der Name *S. haemolyticus* resultiert aus der Fähigkeit zur Hämolyse. Die hämolytische Aktivität von *S. haemolyticus* ist deutlich geringer als diejenige von *S. aureus*. *S. haemolyticus*-Stämme sind, wie auch *S. epidermidis* Stämme, häufig multiresistent, was die Antibiotikatherapie erschwert (MIRAGAIA et al., 2007; SCHUENCK et al., 2008).

*S. saprophyticus* und *S. cohnii* gehören zur Normalflora der Haut und der Schleimhäute des Menschen und anderer Säugetiere. *S. saprophyticus* wurde in Milch von Tieren mit klinischer und subklinischer Mastitis (BIRGERSSON et al., 1992) sowie auch an extramammären Orten isoliert (THORBERG, 2008).

*S. xylosus* ist ein ubiquitärer Keim, gehört zur Gruppe der *S. saprophyticus* und besitzt die Fähigkeit, wie andere auch, Biofilme zu bilden. *S. xylosus* sind verantwortlich für opportunistische Infektionen bei Tieren und Menschen (DORDET-FRISONI et al., 2007). Taponen (2008) fand *S. xylosus* vor allem in Proben von boviner Haut.

#### **4.1.3.3. *Corynebacterium bovis***

*C. bovis* ist ein Bewohner des Zitzenkanals, der Zitzenzisterne (PANKEY et al., 1985) und der Zitzenhaut (VERDIER-METZ et al., 2009). Er wird meistens als nicht pathogen beschrieben und wird häufig aus scheinbar gesunden Vierteln isoliert. Nur in sehr seltenen Fällen wurde er mit klinischer Mastitis in Verbindung gebracht (BLACK et al., 1972). *C. bovis* kolonisierte Viertel weisen eine signifikant höhere Zellzahl auf als nicht kolonisierte Viertel (LAEVENS et al., 1997; HUXLEY et al., 2003). Während der Laktation wurden diese *Minor pathogens* als extrem kontagiös, sogar mehr als *S. aureus* und *Sc. agalactiae* (HUXLEY et al., 2003) und lange persistierend beschrieben (PANKEY et al., 1985). *C. bovis* wurde besonders aus Milchproben gegen Ende der Laktation isoliert (LAEVENS et al., 1997). Eine mögliche Erklärung besteht darin, dass

durch die tägliche Belastung des Zitzenepithels durch das Melken vermehrt Keratin gebildet wird. *C. bovis* besiedelt bevorzugt Keratingewebe (BLACK et al., 1972; HOGAN et al., 1987a). In einer kürzlich erschienenen Studie über den Einfluss von Melkmethoden auf die Zusammensetzung der bakteriellen Population in roher Milch haben Verdier-Metz und Mitarbeiter (2009) nachweisen können, dass in Betrieben mit einem hohen hygienischen Standard nur Corynebakterien als dominante Population zu finden waren. In einer Studie von Hogan und Mitarbeiter (1987) konnte ein protektiver Effekt gegen Infektionen mit *S. aureus* nachgewiesen werden und Lam und Mitarbeiter (1997) berichten von einem schützenden Effekt von *C. bovis* auf *Sc. uberis* Infektionen. In einer anderen Untersuchung konnte allerdings eine acht Mal höhere Infektionsrate mit *Sc. agalactiae* in *C. bovis* infizierten Vierteln nachgewiesen werden (PANKEY et al., 1985). Abgesehen von einer generellen Aktivierung des Immunsystems, z.B. durch Erhöhung der Zellzahlen, kann auch die Konkurrenz an den Bindungsstellen des Eutergewebes und Veränderungen der Fettsäurekonzentration im Keratin der Zitzenöffnung Einfluss auf die Interaktion von *C. bovis* mit anderen Pathogenen haben (SCHUKKEN et al., 1999). Kontrovers diskutiert wird der Schutzeffektes von *C. bovis* gegen weitere pathogene Mikroorganismen (HUXLEY et al., 2003).

#### **4.1.4. Risikofaktoren für die Entstehung von Mastitiden**

Mastitis auf Bestandesebene ist ein derartig vielschichtiges Problem, dass es von verschiedensten Faktoren im Milchviehbetrieb beeinflusst wird. Siehe dazu die Abbildung von Noordhuizen (2007: Abb.1).

Basierend auf den Arbeiten von Peeler und Mitarbeiter (2000), Barnouin und Mitarbeiter (2005), O'Reilly und Mitarbeiter (2006) sowie Breen und Mitarbeiter (2009) werden die wichtigsten Faktoren aufgelistet, welche die Entstehung von klinischen Mastitiden positiv wie auch negativ beeinflussen.

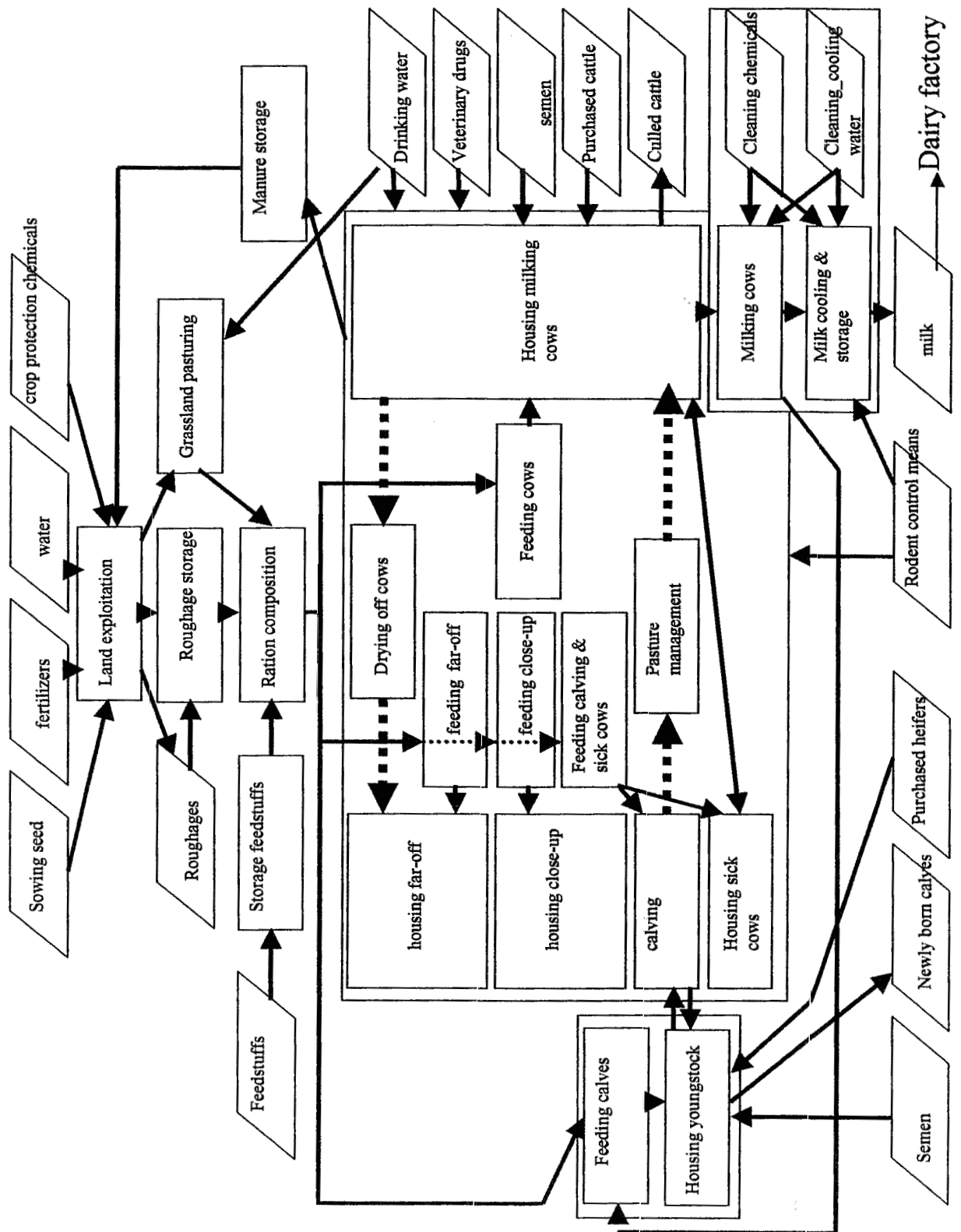
Nach Schulz (1994) sind im Allgemeinen bei der Auseinandersetzung des Tieres mit einer Infektionskrankheit prädisponierende Faktoren wesentlich beteiligt.

Deren Beachtung spielt eine wichtige Rolle bei der Durchführung diagnostischer, therapeutischer und prophylaktischer Massnahmen. Sie sind bei der Mastitis folgendermassen zu unterteilen:

- Faktoren, die primär an die Kuh gebunden sind
- Faktoren des Milchentzuges
- Faktoren aus Nutzung und Haltung
- Fütterungseinflüsse
- Wetter und Klima
- Exogene Einflüsse wie Impfungen und Arzneimittelapplikationen (nach Wendt, 1998).

Faktoren betreffend des Milchentzugs sind in Tabelle 4 dargestellt. Nach RADOSTITS und Mitarbeiter (2008) ist die geringe Heritabilität (0.05) für Mastitis ein Beweis für die besondere Wichtigkeit der Umweltfaktoren. Unterschiede in der Entstehung von Euterinfektionen und die Inzidenz von klinischen Mastitiden wird durch die Umwelt massgebend beeinflusst.

Abb.1: CCP's auf dem Milchviehbetrieb (NOORDHUIZEN, 2007)





Tab.4: Haupteinflussfaktoren auf die Eutergesundheit beim Melken und Beispiele für Ursachen  
(nach Wendt et al., 1986)

<b>Keimübertragung</b>	<b>Euterreizungen</b>	<b>Störungen des Milchejektionsreflexes und unvollständige Euterentleerung</b>	
Vektorfunktion	Funktion der Melk- maschine	Melkfehler	Tier- belastungen
<ul style="list-style-type: none"> <li>• unsaubere Euter</li> <li>• ungenügende Hände-, Zitzen- und Melkbecherdesinfektion, alte Zitzengummis</li> <li>• Vakuumschwankungen</li> <li>• Unterlassen der Vorgemelkprobe</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Melkvakuum zu hoch</li> <li>• Vakuumschwankungen</li> <li>• Störungen der Pulsator-tätigkeit</li> <li>• Zitzengummi zu straff, zu schlaff, überaltert</li> <li>• Abschalten erfolgt zu früh/spät</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ungenügendes Anrüsten</li> <li>• Blindmelken</li> <li>• ungenügendes Nachmelken</li> <li>• Bedienung von zu vielen Melkzeugen</li> <li>• zeitliche Trennung der Anrüstmomente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Angst</li> <li>• Schmerz</li> <li>• Unbehagen der Tiere</li> <li>• Euterreizung</li> </ul>

## **4.2. Diagnostik**

### **4.2.1. Einzeltierdiagnostik**

Die Einzeltierdiagnostik gliedert sich nach Schulz (1994) in klinische, labordiagnostische und weitere Untersuchungen. Labordiagnostische Untersuchungen des Eutersekrets umfassen bakteriologische Untersuchung, Antibiotogramm, zytologische- und physikalisch-chemische Untersuchungen. Die bakteriologische Untersuchung ist für die ätiologische Abklärung von Mastitiden wichtig und gibt Hinweise für die Therapie, die Prophylaxe und die Einschätzung der epidemiologischen Situation im Bestand. Es können verschiedene Proben gezogen werden. Die Viertelsgemelkprobe ist eine Probe aus dem Viertelgemelk, meist Anfangsgemelk, und bietet die höchste diagnostische Sicherheit (50 bis 60%; WENDT, 1998). Werden aus Proben erkrankter Viertel keine Erreger nachgewiesen, können verschiedene Ursachen vorliegen. Die Erreger können vom Körper bereits eliminiert worden sein, es können Erreger beteiligt sein, die spezifischer Untersuchungen bedürfen oder Hemmstoffe ermöglichen den Nachweis nicht. Des Weiteren kann es sich um einen Erreger handeln, welcher stark wechselnd ausgeschieden wird oder der sich intrazellulär aufhält (RADOSTITS et al., 2008). Hinzu kommen Fehler bei der Probennahme, Probenbearbeitung und Nährbodenherstellung. Negative kulturelle Untersuchungsergebnisse erlauben keine sichere Aussage in Bezug auf das Freisein von einem Infektionserreger (SCHULZ et al., 1994). Besonders bei subklinischen Mastitiden liegen häufig negative bakteriologische Befunde vor (23.7 bis 28.8% - SCHULZ, 1994). Bakteriologische Befunde von Milchproben euterkranker Kühe sind zu 15 bis 40% negativ (RADOSTITS et al., 2008).

Die Resistenzbestimmung der diagnostizierten Erreger soll einer wirkungsvollen Mastitistherapie dienen.

Nach SCHULZ (1994) werden für die zytologische Untersuchung verschiedene Methoden verwendet:

- Zählung der Zellen auf der Basis einer Fluoreszenzfärbung der DNA mit Ethidiumbromid (Fossomatic-Gerät)
- Schalmtest oder auch California Mastitis Test genannt (CMT). Es handelt sich um ein Verfahren zur indirekten Bestimmung des Zellgehaltes der Milch. Als Testreagenz wird Na-Lauryl-sulfat verwendet, das als Netzmittel mit der DNA des Zellkerns einen Komplex bildet, der bei Überschreiten eines Zellzahlwertes von ca. 100'000 Zellen/ml als Gel sichtbar wird. Dem Testreagenz ist ausserdem Bromcresolpurpur als pH-Indikator beigelegt (purpur = pH > 7; gelb = pH 5,2).

#### **4.3. Melkhygiene und ihre Grenzen**

Eine der wichtigsten Massnahmen bei der Prophylaxe von Mastitiden ist mit Sicherheit die Melkhygiene. Diese wird mit zwei Zielen durchgeführt: Die Prävention vor neuen intramammären Infektionen während des Melkens und die Prävention von Infektionen die in der Zwischenmelkzeit entstehen können (NEAVE et al., 1969). Da euterassozierte Keime hauptsächlich während des Melkens übertragen werden, ist der Melkhygiene besondere Beachtung zu schenken. Nach übereinstimmender Auffassung vieler Untersucher (u.a NEAVE et al., 1969; GALTON et al., 1998) besteht eine direkte Beziehung zwischen Zahl und Art der Bakterien auf der Zitzenhaut einerseits sowie der Häufigkeit und dem Typ der sich entwickelnden Euterinfektionen andererseits. Durch Zitzenhautdesinfektion wird die Bakterienpopulation reduziert und somit die Gefahr von Neuinfektionen verringert (GALTON et al., 1982). Beim Melken von Kühen, deren Viertel bereits infiziert sind, verbleiben Mastitiserreger auf der Oberfläche der Zitzengummis und können auf die nächsten 6 - 8 nachfolgend gemolkenen Kühe übertragen werden (FALKENBERG, 2002). Das

Nachdippverfahren ist eine effiziente, weltweit häufig angewendete Methode zur Prophylaxe von Mastitiden des Rindes (PANKEY et al., 1984; OLIVER et al., 1991). Es kann das Auftreten neuer intramammärer Infektionen um 50-90% reduzieren (DODD et al., 1969; NEAVE et al., 1969). Gemäss einer Studie von NICKERSON und Mitarbeiter (1990) werden damit auch bereits bestehende intramammäre Infektionen positiv beeinflusst. Das ist die erste Studie, die das behauptet. Alle andere Autoren, u.a. PANKEY und Mitarbeiter (1984) und OLIVER und Mitarbeiter (1991) beobachteten, dass das Nachdippen keine Euterinfektionen, welche sich bereits im Euterviertel manifestierten, beeinflussen konnte. DODD und Mitarbeiter (1969) zeigten in einer Studie, dass in einem Beobachtungszeitraum von 12 Monaten durch ein Nachdippverfahren die Neuinfektionsrate zwar um 50% sank, sich aber die Gesamtzahl der infizierten Viertel nur um 14% reduzierte. Dieses Ergebnis ist auf die Persistenz bereits bestehender subklinischer Euterinfektionen zurückzuführen.

*Major Pathogens* werden mit Nachdippverfahren stark reduziert (BRAMLEY und DODD, 1984; PANKEY et al., 1984; FOX und GAY, 1993), während die klinische Wirksamkeit gegenüber umweltassoziierten Mastitiserregern wie coliformen Keimen und anderen Streptokokken als *Sc. agalactiae* Defizite aufweist (BRAMLEY et al., 1981; SMITH et al., 1985; OLIVER et al., 1991; SMITH und HOGAN, 1995b). Die intramammären Infektionen der Viertel mit coliformen Keimen stieg bei der Anwendung von Nachdippverfahren mit verschiedenen Mitteln signifikant an (HOGAN et al., 1987; GOLDBERG et al., 1994). Diese Keime dringen zwischen den Melkzeiten in die Milchdrüse ein. Die desinfizierende Wirkung des ordnungsgemäss applizierten Dippmittels hält ca. 1-2 Stunden an und kann somit nicht über die gesamte Zwischenmelkzeit schützen (FALKENBERG, 2002), was darauf hindeutet, dass andere hygienische Massnahmen wie die Zitzenreinigung und Vordippverfahren bei der Eutervorbereitung wichtig sind, um Umweltkeime auf der Zitzenhaut zu reduzieren (BRAMLEY et al., 1981; GALTON et al., 1984). Um die Rolle von

*Minor pathogens* zu verstehen, wurden in Holland und England Studien durchgeführt, welche feststellten, dass in Herden mit tiefer jährlicher somatischer Gesamtmilchzellzahl (<150'000/ml) das Durchführen von Nachdippverfahren die Gefahr für die Entstehung von Umweltpathogenen- und *E. coli* Mastitiden erhöhen kann (SMITH et al., 1985; SCHUKKEN et al., 1991; LAM et al., 1997). Diese Autoren postulieren, dass durch das Entfernen von *Minor pathogens* (wie *Corynebacterium* spp. und CNS) vom Euter, auch deren Schutzeffekt beeinträchtigt wird und dadurch das Euter empfindlich für *E. coli*- Infektionen gemacht wird. Des Weiteren ist ein Nachdippverfahren mit einem Handdippbecher, der für verschiedene Tiere verwendet wird, immer eine potentielle Kontaminationsquelle für die behandelte Zitze (VAN DAMME, 1982). Eine Beurteilung der Dippbecher beim Routineeinsatz im Melkstand zeigte auf, dass diese teilweise stark kontaminiert waren (WESTFALL et al., 1987).

#### **4.3.1. Zitzen- und Euterreinigung**

Durch die trockene Zitzenreinigung sollen Schmutz und Kot vor der Gewinnung des Lebensmittels Milch entfernt werden. Von grosser Bedeutung ist allerdings, dass durch eine gute Stallhygiene, sowie eine optimale Gestaltung und Pflege der Liegeplätze eine starke Verunreinigung der Euter zwischen den Melkzeiten vermieden werden kann. Diese Massnahmen sind ebenso wichtig wie eine gründliche trockene Zitzenreinigung, da dadurch auf die problematische nasse Zitzenreinigung (Euterduschen) verzichtet werden kann (EWY, 2003).

Für die vorgeschriebene und aus Hygienegründen erforderliche Euterreinigung vor dem Melken sind verschiedene Hilfsprodukte im Einsatz.

Der schweizerische Rindergesundheitsdienst empfiehlt, wenn immer möglich, das Euter trocken zu reinigen, da ein übermässiger Wassereinsatz zusätzliche Probleme mit Euterentzündungen verursachen kann und die Haftung des Melkzeuges bei feuchten Zitzen reduziert sein kann. Falls das stark verschmutzte Euter nass gereinigt wird, müssen die Zitzen mit Einwegmaterial abgetrocknet

werden, bevor das Melkzeug angesetzt wird, um eine Verbreitung von Keimen zu vermeiden. Nass-Eutertücher, Abtrocknung und Zitzentauchen plus Abtrocknung vor dem Melken reduzieren die Anzahl von neuen intramammären Infektionen im Vergleich zu nicht vorbereiteten Eutern (GALTON et al., 1988).

Bezüglich des Waschens der Zitzen vor dem Melken besteht gemäss Griffin (1983) die Gefahr einer Verteilung der euterpathogenen Keime zwischen Zitzen und Kühen, was die Häufigkeit von Euterentzündungen erhöht.

Die zur Euterreinigung angebotenen Hilfsstoffe lassen sich in Einmalpapier, Euterwolle und textile Tücher, sowie Kombinationen dieser Trockenreinigungsmaterialien mit desinfizierenden Lösungen unterteilen. Bei allen ist die Voraussetzung, dass nur ein Papier, Tuch, bzw. Euterwolle pro Euter benutzt und danach das Material entsorgt wird oder die Tücher gesammelt und gewaschen werden, *conditio sine qua non*. In der Praxis übliche Mehrfachanwendungen an mehreren Kühen sind unsinnig und verspielen die hygienischen Vorteile von Einwegmaterialien (EWY, 2003).

Euterpapier ist Einwegmaterial und wird über verschiedene Bearbeitungsprozesse entsprechend der jeweiligen Herstellungsverfahren in der Papierindustrie gefertigt. Die im Handel angebotenen, unterschiedlichen Qualitäten sind für den Anwendungszweck optimiert, z.B. in Bezug auf die Reissfestigkeit bei Anfeuchtung mit desinfizierenden Flüssigkeiten. Papier ist nahezu keimfrei, sofern der Vorrat trocken gelagert wird und kann nach der Anwendung problemlos entsorgt werden.

Papierdünne Holzwolle (Euterwolle) ist wegen des besonders guten Griffs geeignet, um verklebte Schmutzpartikel an der Zitze zu lösen. Als Einmalprodukt muss es nach dem Reinigen eines Euters entsorgt werden. Der Vorrat an Euterwolle (Polyethylen-Sack) muss trocken gelagert werden und sollte nicht der Luft- und Spritzwasser-Feuchtigkeit eines Melkstandes ausgesetzt sein. Ansonsten wird der Vorteil eines nahezu keimfreien Ausgangsproduktes unnötig reduziert.

Textile Zitzentücher (Baumwollstoff) werden entsprechend der Anzahl Kühe eingesetzt, pro Kuh eines, und nach Gebrauch in der Waschmaschine gewaschen und geschleudert. Durch den Waschvorgang (Temperatur  $>60^{\circ}\text{C}$  und Waschmittel) ist eine ausreichende Entkeimung gegeben (EWY, 2003).

#### **4.3.1.1. Zusatz von desinfizierenden Komponenten**

Unter Desinfektion versteht man die Zerstörung von Mikroorganismen. Die Desinfektion inaktiviert nicht alle Mikroorganismen, aber reduziert ihre Zahl auf ein für einen bestimmten Zweck akzeptables Niveau (British Standards Institution). Die Anforderungen an Desinfektionsmittel sind: Breites Wirkungsspektrum, kurze Einwirkzeit bei niedriger Konzentration, geringer Kältefehler, geringer Eiweissfehler, irreversible Wirkung, Haut- bzw. Schleimhautverträglichkeit, niedrige dermale Toxizität, ausreichende Stabilität und günstige Rückstandssituation (STEPHAN, 2006). Desinfektionsmittel haben einen wenig spezifischen Wirkungsmechanismus, da sie in den meisten Fällen Proteine denaturieren oder oxidativ wirken (MEYER, 2006). Aufgrund dieses sehr allgemeinen und unspezifischen Wirkmechanismus sind Resistenzen gegen solche Wirkstoffe nicht häufig zu erwarten, jedoch auch nicht grundsätzlich auszuschliessen (STEPHAN, 2006). Anerkannte Testmethoden zur Wirksamkeitsprüfung von Desinfektionsmitteln basieren sowohl auf einem Reihenverdünnungstest, wie auch auf Suspensionsversuchen. Der erste Test dient der Bestimmung der bakteriostatischen Wirkung eines Desinfektionsmittels, der zweite dient der Bestimmung der bakteriziden Wirkung eines Desinfektionsmittels. Aus den Daten des Reihenverdünnungstests wie auch der Suspensionsversuche werden dann eine Anwendungskonzentration und eine Einwirkzeit für ein bestimmtes Desinfektionsmittel für seinen Einsatz vorgeschlagen (STEPHAN, 2006). Desinfektionsmittel mit solchen Gutachten sind z.B. in der Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft aufgelistet (DVG, 2006).

Prinzipiell sind desinfizierende Komponenten ihrer Natur nach reizend und benötigen neben einer Mindestmenge an aktiv wirksamer Substanz auch noch eine Einwirkzeit, um die geforderte Keimreduktion, zum Beispiel auf der Zitzenhaut, zu realisieren. Der Einsatz solcher desinfizierenden Substanzen vor dem Melken kann eine Verschlechterung des Zustandes der Zitzenhaut nach sich ziehen (Austrocknung und Schuppenbildung, Reizung der Haut bis Verletzungen) und sollte daher immer von Pflegemassnahmen der Zitze nach dem Melken begleitet werden. Der schweizerische Rindergesundheitsdienst empfiehlt den Einsatz von desinfizierenden Komponenten auf Problemzeiten im Betrieb zu beschränken. Die Forschungsanstalt für Milchwirtschaft hat zur Zeit zwei Substanzen für den Einsatz vor dem Melken zugelassen (Desinficin® und Eutranol®). Der Wirkungsansatz richtet sich gegen umweltbedingte, meist akut verlaufende Euterentzündungen. Bei chronischen Euterentzündungen ist das Zitzendippen in jodhaltigen Zitzentauchlösungen nach dem Melken wesentlich besser wirksam (EWY, 2003).

#### **4.3.2. Zitzendippmittel**

##### **4.3.2.1 Allgemeines zu Dippmitteln**

Erste Untersuchungen über das Zitzendippen als Massnahme zur Beherrschung der Mastitis des Rindes wurden von Moak (1916) unternommen. Er dippte die Zitzen seiner Versuchstiere in Pinienöl und konnte dadurch die Rate intramammärer Neuinfektionen mit *Sc. agalactiae* senken. 40 Jahre später berichteten Newbould und Barnum (1956), dass Zitzendippen mit Desinfektionsmitteln die Zahl der Staphylokokken auf den Zitzenbechern reduzierte. Heute ist Zitzendippen in Betrieben mit Milchproduktion auf hohem Leistungs- und Qualitätsniveau zur Routine bei der täglichen Melkarbeit geworden.



Bei der Anwendung eines Zitzentauch- oder Zitzensprühverfahrens sind zwei Präparategruppen zu unterscheiden: Die Zitzenpflegemittel und die Zitzendesinfektionsmittel.

Im Folgenden wird nur auf das Zitzendesinfektionsmittel zum Nachdippen eingegangen. Um beim Dippen eine Abtötung der Keime auf der Zitzenoberfläche zu erreichen, muss eine Mindestmenge Desinfektionsmittel auf die Zitze aufgetragen werden. Das Desinfektionsmittel muss in einer bestimmten Konzentration, der minimalen Hemmkonzentration, über einen bestimmten Zeitraum zur Entfaltung der bakteriziden Wirkung einwirken. Ausserdem sollte die Zitze gleichmässig vom Dippmittel bedeckt werden. Die Anwesenheit von Kot, Harn oder Milch beeinträchtigt die desinfizierende Wirkung. Diese Einflussfaktoren müssen bei der Einschätzung verschiedener Applikationsverfahren berücksichtigt werden (FALKENBERG, 2002).

Die Applikation des Mittels sollte unmittelbar nach Abnahme des Melkzeuges erfolgen. Der Strichkanal ist zu diesem Zeitpunkt noch geöffnet und das Dippmittel kann in den Strichkanal eindringen und dort Keime abtöten. Eine Applikation des Dippmittels bei bereits verschlossenem Strichkanal hat keine Wirkung auf Mikroorganismen in diesem Bereich (BLOWEY und EDMONDSON, 1996). Bramley (1984) zeigte, dass eine Verzögerung von 10 Minuten zwischen Melkzeugabnahme und Zitzendippen eine Kolonisierung von *C. bovis* im Strichkanal nicht verhindern konnte. Rissige Zitzenhaut stellt ein Reservoir für *S. aureus* dar (FOX et al., 1991), deswegen sollte beim Zitzendippen auf eine genügende Eintauchtiefe geachtet werden, damit die Desinfektion eines grossen Teiles der Zitzenoberfläche erreicht werden kann. Die Meinung, in welchem Umfang die Zitze vom Dippmittel benetzt werden sollte, ist aber nicht einheitlich. Die allgemeine Empfehlung ist, mindestens die untere Hälfte der Zitze mit Dippmittel zu benetzen (PANKEY et al., 1984; DUPREEZ, 1987; HOGAN et al., 1987). Andere Autoren (BLOWEY und EDMONDSON, 1996) hingegen empfehlen das vollständige Benetzen der Zitze mit dem Desinfektionsmittel, da

durch das Dippverfahren euterpathogene Keime, welche im Bereich von möglichen Zitzenhautläsionen an der gesamten Zitze oft vorkommen, abgetötet werden. Um die Haftung des Zitzendippmittels auf der Zitzenhaut zu erhöhen, wurden filmbildende Dippmittel entwickelt. Dank ihrer desinfizierenden Komponente haben diese Dippmittel nicht nur eine keimabtötende Wirkung, sondern stellen zudem eine mechanische Schutzbarriere dar (TIMMS, 1997). Filmbildner mit desinfizierender Komponente sind in ihrer Effizienz hinsichtlich der Prophylaxe intramammärer Infektionen mit konventionellen Präparaten vergleichbar (POUTREL et al., 1990; HOGAN et al., 1995). Bei Hogan und Mitarbeiter (1995) ist die klinische Wirksamkeit hinsichtlich der Prophylaxe intramammärer Infektionen mit CNS sogar grösser ( $p < 0.05$ ).

Mittel, die zum Nachdippen eingesetzt werden, enthalten bis zu 10% Hautpflegekomponenten wie Glycerin. Mehr solcher Bestandteile sollte ein Zitzentauchmittel nicht enthalten, da sonst die desinfizierende Wirkung des Mittels beeinträchtigt wird (NEAVE, 1971). Für die Beurteilung der klinischen Wirksamkeit eines Dippverfahrens werden die Entwicklung des Infektionsstatus der Euterviertel, die Entwicklung des Zellgehaltes des Gemelkes und die Entwicklung der Eigenschaften von Euterhaut und Milchdrüsengewebe behandelte Viertel im Vergleich zu Kontrollvierteln herangezogen. Bei der Betrachtung der Entwicklung von Euterinfektionen sind deren verschiedene Kennzahlen (Infektionen, Inzidenz klinischer Mastitiden, Neuinfektionsrate intramammärer Infektionen) zu berücksichtigen (DODD et al., 1977).

#### **4.3.2.2. Jodophore**

*Zusammensetzung.* Jodophore enthalten freies Jod ( $J_2$ ) und Jodidionen ( $J^-$ ), welche sich im chemischen Gleichgewicht mit jodhaltigen Komplexverbindungen befinden (GERSHENFELD, 1977). Ein Jodophor ist eine Komplexverbindung von Jod und oberflächenaktiven Substanzen wie z.B. Poloxamer-Iod-Komplex

oder Jodträgern wie zum Beispiel das nicht-oberflächenaktive Polyvinylpyrrolidon (PVP), welches ein Wirkstoffreservoir darstellt (ANONYM, 2001).

Freies Jod und komplex gebundenes, inaktives Jod stehen miteinander im chemischen Gleichgewicht (PANKEY et al., 1984). Aus den Komplexverbindungen und dem PVP kann freies Jod entlassen werden, wenn es bei der Interaktion mit Bakterien und organischem Material verbraucht wird (FAVERO, 1982). Auf diese Weise kann über einen begrenzten Zeitraum eine Konzentration von 0.5 – 1% freiem Jod aufrechterhalten werden. Das komplex gebundene und das freie Jod werden zusammen als verfügbares Jod bezeichnet (PANKEY et al., 1984). Im Allgemeinen enthalten Präparate zum Nachdippen einen höheren Anteil an Gesamtjod als Präparate zum Vordippen. Nachdippräparate sollen über einen möglichst langen Zeitraum ihre desinfizierende Wirkung entfalten. Deswegen enthalten sie viel komplex gebundenes Jod, welches bei Verbrauch des freien, aktiven Jods freigesetzt werden kann. Präparate zum Vordippen müssen nicht lange, sondern möglichst schnell ihre Wirkung entfalten. Sie enthalten deshalb viel freies Jod (FALKENBERG, 2002). Da molekulares Jod ( $J_2$ ) nur schwer in Wasser löslich ist, kann es nicht in Form der Reinsubstanz oder in Lösung als Zitzendippmittel eingesetzt werden. Jod löst sich gut in Alkohol, aber eine alkoholische Jodlösung reizt die Zitzenhaut stark. Dieses Problem wird durch Zusatz von Lösungsvermittlern und Trägermolekülen für Jod gelöst (WINICOV, 1982; PANKEY et al., 1984).

*Wirkungsmechanismus.* Nur freies Jod hat eine mikrobiozide Wirksamkeit und deren Freisetzung wird vom pH-Wert und von der Konzentration des jeweiligen Desinfektionsmittels bestimmt (ANONYM, 2001a). Jod bewirkt eine Oxidation und Jodierung halogenempfindlicher Enzyme in Mikroorganismen. Dadurch werden grampositive und gramnegative Bakterien, Bakteriensporen, Protozoen und Pilze effizient und innerhalb weniger Minuten abgetötet (GERSHENFELD, 1977; PRINCE et al., 1978; KING et al., 1981; ANONYM, 2001a). Jodophore

interagieren nicht nur mit Bakterien, sondern auch mit anderen organischen Materialien. Wenn die Zitzen bei der Dippmittelapplikation stark verschmutzt sind, wird die klinische Wirksamkeit des Präparates in hohem Masse reduziert, was sich vor allem bei niedriger Konzentration auswirkt. Die bakterizide Wirkung der Präparate dieser Substanzgruppe ist temperaturabhängig. Im Bereich von 20°C bis 37°C gibt es keine wesentlichen Wirkungsunterschiede (HEESCHEN und HAMANN, 1987).

#### **4.3.2.3. Organische Säuren**

Einige Dippmittel enthalten Milchsäure als einziges Desinfektionsmittel.

Milchsäure ist eine der am weitest verbreiteten Säuren in der Natur. Sie wird durch Milchsäurebakterien als hauptsächliche Säure während aller Fermentationsvorgänge von Lebensmitteln synthetisiert (SCVPH, 1998). Kurzkettige organische Säuren wie z.B. Essigsäure, Milchsäure, Zitronensäure besitzen antibakterielle Aktivität, manche (Sorbinsäure und Propionsäure) haben auch antifungale Effekte. Milchsäure entfaltet ihre optimale Desinfektionswirkung bei einem pH-Wert von 3-4. Kurzzeitwirksam ist Milchsäure im stark sauren Bereich; bereits bei pH 5 fehlt diese kurzfristige Desinfektionswirkung (WALLHÄUSER, 1988). Die bakteriziden bzw. bakteriostatischen Eigenschaften von Säuren hängen im allgemeinen vom Grad der Dissoziation der Säure im Milieu bei einem bestimmten pH ab. Ein antimikrobieller Effekt steigt mit wachsender Konzentration undissoziierter Säure (DOORES 1993). Milchsäure ist mischbar mit Wasser, Alkohol und Glycerin und der Wirkstoff zersetzt sich rückstandsfrei.

Vor allem gramnegative Bakterien sind gegenüber Milchsäure empfindlich (FRANK, 1994).

#### **4.3.2.4. Chlorhexidin**

Diese Substanz besitzt ein breites antimikrobielles Wirkspektrum und findet als Dippmittel in 0.2 – 1%igen Lösungen Anwendung. Die Wirksamkeit gegen Mycobakterien, Pilze und Viren ist nur gering und unzuverlässig (ANONYM, 2001a).

*Wirkungsmechanismus.* Chlorhexidin wird schnell an die Oberfläche von Mikroorganismen angelagert (LONGWORTH, 1971). Produkte dieser Substanzklasse werden weniger als andere Zitzendippmittel durch Anwesenheit organischer Materialien in ihrer bakteriziden Wirkung beeinflusst (CAIMAN und MURRAY, 1956). Die mikrobiozide Wirksamkeit hält auf der Zitzenhaut länger als die anderer Desinfektionsmittel (GODHINO, 1980). Chlorhexidin irritiert die Zitzenhaut (MCDONALD, 1970), deshalb sind Hautpflegekomponenten zugesetzt.

#### **4.3.2.5. Quaternäre Ammoniumverbindungen**

Produkte auf Basis von quaternären Ammoniumverbindungen enthalten neben dem Desinfektionsmittel noch pH-Puffer, Dickungsmittel, Farbstoffe, Wasser und eventuell pflegende Komponenten zu unterschiedlichen Anteilen (PANKEY et al., 1984).

*Wirkungsmechanismus.* Die Wirkungsweise dieser Präparate besteht in einer Denaturierung des Zelleiweisses (PUTMAN, 1948), der Hemmung von Enzymaktivitäten (NEWTON, 1958) und der Störung der Membranpermeabilität (ARMSTRONG, 1957). Diese Verbindungen sind sehr hautverträglich und wirksam, da sie keine starken alkalischen oder sauren Komponenten enthalten (PANKEY et al., 1984).

#### **4.3.2.6. Hypochlorite**

Natriumhypochlorite sind in Gebrauchskonzentrationen bis 4% als Zitzendippmittel im Handel. In der Schweiz ist zurzeit Desinficin CL (Chloramin

T) als 0.5%ige Gebrauchslösung ad us. vet. zugelassen. Chloramin T wirkt in wässriger Lösung wie Hypochlorit, besitzt demgegenüber jedoch den Vorteil der längeren Haltbarkeit. Außerdem ist es weniger aggressiv, z. B. gegen die Haut oder andere organische Materialien (SHETTY und GOWDA, 2004). Hautpflegekomponenten sollten nicht zugefügt werden, um die bakterizide Wirkung nicht zu beeinträchtigen (BRAMLEY et al., 1981). Hypochloride reagieren stark mit organischen Materialien und wenn die Zitzen stark damit verschmutzt sind, ist der Einsatz solcher Produkte ineffektiv (PANKEY et al., 1984). Zur Stabilisierung von Hypochloritlösung wird oft Natriumhydroxid zugesetzt, welches Reizerscheinungen an den Händen der Melker verursacht.

*Wirkungsmechanismus.* Die desinfizierende Wirkung beruht auf Denaturierung struktureller und enzymatischer Proteine der Bakterienzelle durch eine stark oxidierende Wirkung (PANKEY et al., 1984).

#### **4.3.2.7. Dodecylbenzolsulfonsäure (DDBSA)**

Diese Chemikalie ist eine der wichtigsten und leistungsstärksten Komponenten in vielen Reinigungsmitteln. DDBSA sind in Gebrauchskonzentrationen von 2% im Handel und enthalten einen schwachen pH-Puffer, Glycerin oder andere Hautpflegekomponenten. Dieses Präparat ist sehr hautverträglich und wirkt gut gegen ein grosses Keimspektrum, auch in Anwesenheit organischen Materials.

*Wirkungsmechanismus.* Der genaue Wirkungsmechanismus ist noch nicht vollständig erklärt worden, es gibt aber drei Hypothesen darüber: 1) Allgemeine Eiweissdenaturierung, 2) Inaktivierung essentieller Enzyme, 3) Zerstörung der Zellmembran von Mikroorganismen durch Veränderung der Membranpermeabilität (PANKEY et al., 1984).

#### **4.3.3. Die Rolle der Melkanlage in der Melkhygiene**

Eine wichtige Quelle für die Übertragung von Keimen auf das Euter stellt die Melkeinheit dar (SMITH und HOGAN, 1995b). Während des Melkens können

Erreger über die Zitzengummis von Kuh zu Kuh transferiert werden (FELDMANN et al., 2006). Nach WENDT und Mitarbeiter (1994) ist der am stärksten kontaminierte Abschnitt einer Melkanlage die Melkeinheit, da deren Gummiteile nur schwer zu reinigen sind und hohe Temperaturen sowie oxidierende Desinfektionsmittel die Gummiqualität beeinträchtigen. Dabei hat das Alter der Gummiteile offensichtlich den grössten Einfluss auf deren Keimkontamination (EDMONDSON, 2001), obwohl dies in einer Studie von FELDMANN und Mitarbeiter (2006) nicht bestätigt werden konnte. Frei aufbewahrte Zitzengummis können bis zur nächsten Melkzeit abtrocknen, während in den nachgeschalteten milchführenden Wegen in der Zwischenmelkzeit meistens ein Flüssigkeitsfilm verbleibt, sodass dadurch ein vermehrtes Keimwachstum gefördert wird (FELDMANN et al., 2006). In einer Studie von HOEDEMAKER und Mitarbeiter (2006) konnte man bestätigen, dass die Melkanlage für die Übertragung von Hefen auf das Euter als Vektor von Bedeutung ist. Die Hefemastitis als Bestandesproblem wird oft mit einer mangelhaften Reinigung und Desinfektion der Melkanlage in Verbindung gebracht (HOEDEMAKER et al., 2006). Daher ist die Anwendung effektiver Reinigungs- und Desinfektionsmassnahmen für die Mastitisprophylaxe essentiell und verbessert gleichzeitig die bakteriologische Qualität der Rohmilch (PANKEY, 1989).

## **5. MATERIAL UND METHODIK**

### **5.1. Betriebe und Tiere**

Es wurden 10 Betriebe mit der höchsten Mastitisrate im Jahr 2007 aus dem Einzugsgebiet der Ambulanz des Departement für Nutztiere der Universität Zürich ausgewählt.

Die Auswahl der Betriebe erfolgte anhand der Sammlung von Milchberichten vom Vorjahr und der Anzahl Euterbehandlungen, welche in der Datenbank der Ambulanz eingetragen waren. Ein kleiner Teil dieser Betriebe wurde aufgrund eines in der Zeitspanne der Probensammlung aufgetretenen Bestandesproblems mit Euterentzündungen ausgewählt. Beim ersten Betrieb, welcher als Vorversuchsbetrieb verwendet wurde, handelt es sich um die Aussenstation Stigenhof des Departement für Nutztiere des Tierspital Zürich. Die Untersuchungen wurden zwischen dem 17. Januar 2008 und dem 18. September 2008 durchgeführt. Jeder Betrieb wurde fünf Mal, in einem durchschnittlichen Abstand von 15 Tagen, zu den Abendmelkzeiten besucht. Ein Betrieb wurde einmal zur Morgenmelkzeit besucht. Insgesamt wurden 344 Tiere in die Studie einbezogen. Beim ersten Betriebsbesuch wurden die allgemeinen Daten des Betriebes, wie die Haltung, die Fütterung, aufgetretene Krankheiten, sowie Eutergesundheitsdaten anhand von standardisierten Erhebungsformularen (Bestandesmedizin des Departements für Nutztiere der Universität Zürich) erhoben. Es handelte sich vorwiegend um Familienbetriebe mit einer Viehzahl von 20 bis 60 Tieren. Anzahl und Stadium der Laktation wurde nicht berücksichtigt. Die Rassen der Rinder umfassten 61 Holstein Friesian-, 127 Rotfleck-, 2 Montbeliarde-, 138 Braunvieh-, sowie 17 Simmentalerrinder und 6 Kreuzungsrassen. Zwei Betriebe bewirtschafteten ihren Betrieb nach biologischen Prinzipien, die anderen acht gemäss den Vorgaben für integrierte Produktion (IP). Fünf Betriebe hielten ihre Tiere in modernen Laufställen, die restlichen Betriebe waren Ställe mit Anbindehaltung. Bis auf einen Betrieb lassen alle anderen ihre



Tiere jeweils einen halben Tag während des ganzen Jahres weiden. Die Stallhygiene-Situation variierte nur wenig. Die Futtergrundlage besteht aus Gras, Heu, Mais, Getreide und Silofutter. Silofutter wird von zwei Betrieben nur während einer kurzen Zeit im Winter gefüttert. Die Ration wird durch vitaminisierte Mineralsalze ergänzt. Die Jahresmilchleistung der Betriebe lag zwischen 6800 und 8500 kg. Die Zellzahl der Tankmilchproben, die monatlich bei der Milchwägung gemessen wurde und uns von den Betriebsleitern zu Verfügung gestellt wurde, variierte im Jahr 2007 insgesamt zwischen 76'000 und 559'000 Zellen / ml.

## **5.2. Melktechnik**

Fünf Betriebe haben zum Zeitpunkt der Untersuchung mit einer Rohrmelkanlage gemolken, ein Betrieb mit einer Eimermelkanlage und die anderen vier verfügten über einen Melkstand. In einen separaten Eimer wurden laktierende Tiere gemolken, welche sich in den ersten sieben Tagen der Laktation befanden, unter antibiotischer Behandlung waren oder ein deutlich makroskopisch verändertes Milchsekret aufwiesen. In Tabelle 6 ist die vergleichende Darstellung der 10 Betriebe bezüglich Melktechnik und –management aufgelistet.

## **5.3. Versuchsanordnung**

In dieser Studie wurden alle laktierenden Tiere, die nicht unter antibiotischer Behandlung waren, vor dem Melken mit dem Schalmtest (GRAY und SCHALM, 1960) untersucht.

Von allen Kühen, die positiv (+ bis +++) reagierten, wurde eine Viertelgemelksprobe des betroffenen Viertels gewonnen.


Je nach Melkverfahren wurden mittels sterilen Baumwolltupfern vor und nach deren Anwendung folgende Proben entnommen:



- Abstriche von:
  - Holzwolle
  - Papiertüchern
  - Sitzendesinfektionstüchlein
  - Hände der Melker
  - Sitzgummikopf
  - Zitzenbecher
- Proben aus:
  - Sitztauchmitteln vor und nach dem Melken direkt aus den Tauchbechern
  - Sitztauchmitteln direkt aus dem Tank
  - Reinigungsmittel des Melkzeugs (MGRL)
  - Endwasserreinigung direkt aus der Melkanlage und Reinigungswasser vor und nach der Reinigung des Melkzeugs.

Details siehe Tabelle 5. In Betrieb 4 wurden auch Proben von einer Desinfektionswasser-Lösung genommen, die während des Melkens angewendet wurde, um zwischendurch die Zitzenbecher zu desinfizieren.

**Tab.5: Beprobungsmatrix pro Betrieb**

	Eutertuch	Holzvolle	Hände	Dispenser	Zitzentauch- mittel	MGRL	Zitzenbech.	Tank	Spühlwasser	Milch
<b>Betrieb A</b>										
<b>Betrieb B</b>										
<b>Betrieb C</b>										
<b>Betrieb D</b>										
<b>Betrieb E</b>										
<b>Betrieb F</b>										
<b>Betrieb G</b>										
<b>Betrieb H</b>										
<b>Betrieb I</b>										
<b>Betrieb J</b>										

 = beprobt

  = nicht beprobt

**Tab.6: Angaben über Melkanlagen und Melkmethoden der 10 Betriebe**

	Betrieb A	Betrieb B	Betrieb C	Betrieb D	Betrieb E	Betrieb F	Betrieb G	Betrieb H	Betrieb I	Betrieb J
<b>Melkanlage</b>										
Jahrgang	1992	1994	1998	1980	2002	1997/2006	1997	1985	2002	1991
Fabrikat	Nifarm	Alfa Laval	Alfa Laval	Alfa Laval	Westfalia	Alfa Laval / Interpuls	Hektor	Alfa Laval	Melotte	Alfa Laval
System	R	R	R	E	M/ Tandem 5	M / Reihe 6	R	R	M/ Doppelreihe 8	M / Tandem 4
Betriebsvakuum	43	46	44	44	42	43	45	44.5	43	43.8
Letzte Servicekontrolle	Jan 07	Dez 07	Nov 07	Apr 07	Sep 06	Jul 06	Dez 07	Mrz 08	Apr 07	Feb 06
Luftdurchfluss der Vakuumpumpe	560	485	800	8	680	820	900	520	905	550
<b>Reinigung und Desinfektion</b>										
Art der Reinigung und Desinfektion	automatisch	auto-matisch	auto-matisch	manuell	auto-matisch	auto-matisch	auto-matisch	auto-matisch	auto-matisch	manuell
Zirkulationsreinigung	/	/	Alkali Delavl	neutral-Hypracid	Calgonit	Halapur / Halacid S	Solvine KWR	Halapur MP/ Halacid S	/	MenziAlc 1xd/ Geroplus
Temperatur des Spülwassers im Rücklauf	77°C	40°C	70°C	50°C	51°C	54°C	45°C	30°C	50°C	50°C
<b>Melkarbeit</b>										
Vormelken	nein	ja	ja	ja	nein	ja	ja	nein	ja	nein
Euter- und Zitzenreinigung	AT, einmal	HW, mehrmals	AT, HW, einmal	PT, mehrmals	AT, einmal	AT, einmal	AT, einmal	keine	AT, einmal	HW, einmal
Sauberkeit vor dem Melken	gut	gut	gut	gut	mässig	gut	gut	mässig-gut	gut	gut
Dauer der Anrüstphase	2-4 sec	15 sec	8 sec	3-4sec	15 sec	5-6 sec	5 sec	10 sec	15 sec	15 sec

Maschinelle Stimulation	nein	ja, nach Milchfluss	ja, bis 0.3L/min	nein	ja, zeitgesteuert	nein	ja, nach Milchfluss	nein	nein	nein
Handschuhe während des Melkens	ja	nein	nein	nein	ja	nein	nein	nein	ja	nein
Melkzeit	4-6 min	7 min	Milchfluss-gesteuert	4-5 min	Milchfluss-gesteuert	Milchfluss-gesteuert	Milchfluss-gesteuert	6-8 min	Milchfluss-gesteuert	Milchfluss-gesteuert
Verhalten der Tiere	ruhig	ruhig	ruhig	ruhig	ruhig	ruhig	ruhig	unruhig in Sommer	ruhig	ruhig
Nachmelken	nein	nein	nein	bei 2 Kühe	nein	nein	nein	nein	nein	nein
Zitzendesinfektion nach dem Melken	ja, Dipping NRe	ja, Dipping Re	ja, Dipping Re	ja, Dipping Re	ja, Dipping NRe	ja, Dipping NRe	nein	nein	ja, Dipping Re	ja, Dipping Re/NRe
Produkt	Calgodip	Lorasol	Proactiv	Lorasol	Profilac Dip, Armer	Calgodip	/	/	Mamma-Sept	Schaumadip/Lorasol/Kenolac
Melkreihenfolge	nein, S.aureus als letzte	ja	nein	nein	nein	nein	nein	nein	nein	nein
Futternvorlage nach dem Melken	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
<b>Trockenstellen</b>										
Methode	allmählich	abrupt	abrupt	allmählich	abrupt	abrupt	abrupt	allmählich	abrupt	abrupt
Medikamentelles Trockenstellen	ja, alle Tiere	ja, alle Tiere	ja, alle Tiere	ja, selektiv	ja, alle Tiere	ja, selektiv	ja, alle Tiere	ja, alle Tiere	ja, selektiv	ja, alle Tiere

Legende: AT = Alkoholtuch  
HW = Holzwolle  
PT = Papiertuch  
E = Eimermelkanlage

R = Rohrmelkanlage  
M = Melkstand  
Re = Rezirkulierende Dippbecher  
NRe = Nichtzirkulierende Dippbecher

## **5.4. Methodik**

### ***Methoden zur Milchprobenentnahme***

Die Probenentnahme erfolgte zu den Abendmelkzeiten vor dem Melken. Nach der Adspektion und Palpation des Euters und der Sekretbeurteilung (Vorgemelk) wurden die Zitzenkuppen mit Isopropylalkohol (70%; steriles Desinfektionstuch, Intervet) desinfiziert. Nach Verwerfen der Zisternenmilch wurden die nachfolgenden 10 ml Anfangsgemelk in ein Milchröhrchen gemolken und sofort kühl gelagert. Die Proben wurden maximal 48 Stunden im Kühlschrank gelagert. Die Kühe mit klinisch apparenten Mastitiden wurden nach den Vorgaben der Ambulanz des Tierspitals Zürich behandelt.

### ***Untersuchung der Zellzahl (Viertelgemelk)***

Der Zellgehalt der jeweiligen Viertelsmelke wurde unmittelbar vor dem Melken indirekt mit Hilfe der Schalmtest (CMT) bestimmt.

Das Testresultat wurde immer von der gleichen Person, nach 15 Sekunden mischen, beurteilt. Die CMT Ergebnisse wurden als negativ (-), + (Schlieren), ++ (Gel) und +++ (Klumpen) interpretiert. Eine Viertelgemelksprobe wurde von demjenigen Viertel mit CMT  $\geq +$  aseptisch gewonnen. Bei jedem laktierenden Tier, welches nicht einer antibiotische Behandlung unterlag, wurde ein CMT durchgeführt.

### ***Probenentnahme***

Sterile Baumwolltupfer wurden unmittelbar vor der Probenentnahme kurz in sterile physiologische Kochsalzlösung (NaCl 0.9%) getaucht, verschiedene Stellen an den Reinigungs- und Desinfektionsuntensilien beprobt und die Tupfer sofort danach auf einem CASO-Agar mit Desinfektionsenthemmer (Contact plates Envirocheck®, Firma Merck, Nr.118408) ausgestrichen.

Da dieses Medium zwei durch enzymatische Hydrolyse von Casein- und Sojaprotein erhaltene Peptone enthält, ermöglicht es das Wachstum einer grossen

Palette an Mikroorganismen, einschliesslich anspruchsvoller Organismen. Zusätzlich enthält dieses Medium vier Neutralisationsmittel, um mögliche, noch vorhandene, Desinfektionsmittel zu hemmen, was ein Wachstum von Mikroorganismen verunmöglichen würde.

Von den beim Melken eingesetzten Reinigungsmitteln und Desinfektionstüchern wurde auf die gleiche Art und Weise eine Stichprobe entnommen. Die Hände des Melkers wurden kurz vor dem Melken und unmittelbar nach dem Melken beprobt. Wenn mehrere Melker beteiligt waren, hat man nur einen geprüft.

### ***Probenentnahme der Zitzentauchmittel***

Ein steriler Baumwolltupfer wurde in die Zitzentauchmittellösung kurz eingetaucht und unmittelbar danach auf eine CASO-Agarplatte ausgestrichen. Es wurde eine Probe der Zitzentauchlösung, die im Tauchbecher enthalten war vor und unmittelbar nach dem Melken entnommen. Weiter wurde bei jedem Besuch eine Probe der gelagerten Tauchlösung erhoben. Wenn in einem Betrieb mit mehreren Tauchbechern gearbeitet wurde, wurde nur ein Becher geprüft, welcher zufällig ausgewählt wurde. Das Alter und der Name der Tauchlösung in den Tauchbechern wurden jeweils protokolliert. Ebenfalls wurde die Zeit der gesamten Zitzentauchaktion bei jedem Besuch protokolliert.

### ***Probenentnahme in den Zitzenbechern***

Sterile Baumwolltupfer wurden mit steriler NaCl 0.9% benetzt. Unmittelbar danach hat man Abstrichproben unter der Lippe mehrerer Zitzengummiköpfe zufällig ausgewählter Aggregate vor dem ersten Melken wie auch nach dem Melkvorgang entnommen und auf CASO-Agar ausgestrichen.

### ***Probenentnahme des Reinigungsmittels des Melkzeugs, Reinigungswasser der Melkanlage***

Bei einigen Betrieben war es möglich die angefertigte/vorbereitete Reinigungslösung vor und nach dem Reinigungsvorgang des Melkgeschirrs und der Melkanlage mit einem sterilen Baumwolltupfer zu beproben. In anderen Betrieben gewann man eine Probe des Endreinigungswassers, in dem man einen sterilen Baumwolltupfer am Ausgang des Endreinigungswassers aus der Melkanlage angebracht hat und unmittelbar danach auf der CASO-Agar ausgestrichen hat.

Sämtliche Milchproben wie auch die Material-Proben wurden innerhalb von 24 Stunden nach deren Gewinnung an das Diagnostiklabor des Institut für Lebensmittelsicherheit- und -hygiene der Universität Zürich verbracht und dort untersucht.

### ***Untersuchung der Milchprobe***

#### **Bakteriologische Untersuchung**

Die bakteriologische Untersuchung auf Mastitiserreger erfolgte nach Standard Richtlinien der International Dairy Federation (IDF). Sämtliche Milchproben wurden auf 5%-igem Schafblutagar ausgestrichen. Die Nährböden wurden bei 37°C aerob inkubiert und nach 24 stündiger Bebrütung abgelesen.

#### ***CASO-Agar Platten***

Die CASO-Agar Platten wurden bei 37°C während 24 Stunden inkubiert. Von den bebrüteten Platten aller Beprobungsstellen einer Beprobungsserie wurden präsumtive Staphylokokken subkultiviert und konserviert (Abb.2).

Nach Abschluss der Beprobung wurden jeweils alle Isolate eines Betriebes aller Beprobungsserien kultiviert und vergleichend betrachtet.



Basierend auf der Kolonienmorphologie (Grösse, Form, Pigmentierung) wurden Isolate ausgewählt, welche in mehreren Proben über die Serie hinweg vorgekommen sind.

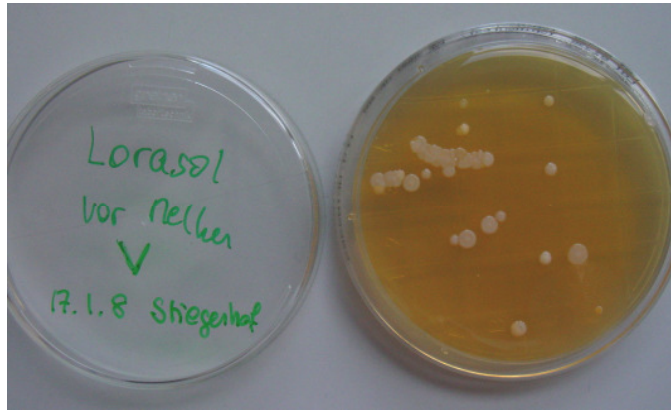


Abb. 2: CASO-Agar Platte von einem Zitzen-tauchmittel, welches vor dem Melken beprobt worden ist.

### ***Stammidentifizierung und weitergehende Genotypisierung***

Das ausgewählte Stammkollektiv (n=207) wurde dann über eine 16S rDNA Sequenzierung identifiziert.

Stämme gleicher Spezies wurden danach mittels ERIC-PCR genotypisiert (VERSALOVIC et al., 1991).

Pro Betrieb wurden die Stämme der gleichen Spezies nebeneinander auf dem Gel aufgetragen, um diese Muster besser und unter möglichst standardisierten Bedingungen direkt miteinander vergleichen zu können (Abb.3). Den verschiedenen Mustern pro Spezies wurden verschiedene Buchstabencodices zugeordnet.

## **5.5. Zusammenarbeit mit anderen Instituten und Abteilungen der Universität Zürich**

Die vorliegende Arbeit basiert auf einer Zusammenarbeit der Abteilung Ambulanz und Bestandesmedizin des Departement für Nutztiere der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich und des Institutes für Lebensmittelsicherheit- und hygiene der Universität Zürich.

## 6. ERGEBNISSE

### 6.1 Anzahl Stämme und Identifizierungsergebnisse

Insgesamt konnten 207 Kolonien identifiziert und genotypisiert werden. Von diesen 207 Stämmen wurden vier als *Corynebacterium casei* identifiziert, zwei waren nicht sequenzierbar, bei zwei Stämmen handelte es sich um *S. aureus* und die restlichen 199 Stämme wurden als CNS identifiziert. 14 verschiedene CNS Spezies wurden identifiziert (Tab. 7).

Tab. 7: Vorkommen und Verteilung der verschiedenen CNS Spezies pro Entnahmestelle

	Milch	Dipplsg.	Tücher	HW	Hände	Becher	Disp.	Tank	Spül.	MGRL	Tot.	%
Beprobt Tot.	606	86	80	33	7	68	78	19	26	23	1026	/
Isolierte KNS	76	34	21	14	6	11	30	6	6	5	209	100
CASO = MP	/	16	10	4	2	5	10	2	2	2	53	/
<i>S. sapro/xyl.</i>	38	16	11	5	2	3	19	2	3	2	101	50.7
<i>S. sciuri</i>	11	4	7	7	2	3	6	0	0	0	40	20.1
<i>S. chromo.</i>	10	2	0	0	0	0	0	0	0	0	12	6
<i>S. equorum</i>	2	4	1	0	0	0	1	1	1	1	11	5.5
<i>S. vitulus</i>	1	3	1	0	1	1	0	0	1	0	8	4
<i>S. haemo.</i>	2	2	0	1	0	1	0	0	1	0	7	3.5
<i>S. fleuretii</i>	0	2	1	0	0	2	0	1	0	0	6	3
<i>S. sapro.</i>	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0	4	2
<i>S. succinus</i>	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	3	1.5
<i>S. cohnii</i>	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	1.2
<i>S. pasturi</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1.2
<i>S. gallinarum</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0.5
<i>S. simulans</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0.5
<i>S. epiderm.</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0.5

Legende: Dipplsg. = Zitzentauchlösung

HW = Holzwolle

Disp. = Dispenser

Spül. = Spülwasser

MGRL = Melkgeschirreinigungslösung

CASO=MP = Anzahl gleiche Erreger die man in CASO-Agarproben sowie in Milchproben desselben Betriebs gefunden hat.

## **6.2 Zuteilung der Spezies auf Betrieb und Material**

Tabellen 8, 9a und 9b zeigen Vorkommen und Verteilung der jeweiligen CNS Spezies bei den Gerätschaften, Reinigungs- und Desinfektionsmitteln pro Betrieb.

Tab. 8: Vorkommen und Verteilung der CNS Spezies in den Betrieben

		Eutertuch					Holzw./Hände					Dispenser					Zitz. Tauchm.					Melkg.Re.Lsg.					Zitzenbecher					Tank					Spühlwasser					Kuh						
Betrieb		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5							
A	V			a2												a	a		a	a							a											a	a	a	a	a						
	N	a		a1							a		a	a	a		a1				a+	a					a											a+	a	a	a							
B	V						a	a			a+						a1	a	a	a3		a4					a1																					
	N						a										a	a	a							a	a1																					
C	V	a1	a				a2			x		a2	a			a		x		a	a5						a1												a	a	a	a4	a					
	N							a	a							a																								a	a	a1						
D	V		a5	a2	a	a							a+	a1	a6			a1	a	a																					a+							
	N		a5		a3	a							a+	a	a	a		a4				a+		a																		a+						
E	V				a3								a1	a2				a																								a	a	a				
	N													a2																													a1					
F	V												a	a						a+																							a	a	a1			
	N	a+	a	a													a		a																								a	a	a2	a	a3	
G	V							a	a				a																																a	a1		
	N							a			x																																		a	a		
H	V							a	a		a	a1																																		a	a	
	N										a																																		a	a		
I	V															a2																														a	a	a4
	N				a2	a											a3				a																								a	a	a	
J	V				a								a	a				a		a	a																									a	a	a
	N			a													a1				a																								a	a	a1	

x	nicht amplifiziert
	nicht beprobt
X	mit Bacillus überwachen/Schimmel/Proteus
†	Gram+ Kokken/Gram- Stäbchen/Streptokokken/E.coli/C.bovis
s	Steril

	S. succinus		S. sciuri		S. equorum
	S. chromo		S. vitulus		S. pasteurii
	S. fleuretii		S. aureus		S. epidermidis
	S. gallinarum		S. haemo		S. simulans
	S. sap/xylosus		S. cohnii		Rothia / Coryn.casei

Tab. 9a: Vorkommen und Verteilung der CNS Spezies vor (V) und nach (N) dem Melken pro Betrieb

		Betrieb A					Betrieb B					Betrieb C					Betrieb D					Betrieb E					
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Eutertuch	V	S	† X	a2	† X	X						a1	a	†	X	†	†	a5	a2	a2	a6	† X		S	S	a3	†
	N	a	† X	a1	† X	X						†	† X	†	† X	† †	† X	a5	†	a3	a		X		†	†	
Holzw/Hände	V						a	a	†	† X	a+	a2	† X	† X	† X	†											
	N						a	†	† X	† X	†	†	a	a	† X												
Dispenser	V	X	X	† X	† X	a a						a2	a	X	a	X	X	a	a1	a6	† X		a1	a2	†	†	
	N	a	X	a1 a	a	† X						†		a		X	† X	a	a	a	a		† X	a2		†	
Zitz.tauch	V	X	a	a	† X	X	a1	a2 a	a3	†	a4	X	x	a	S	S	a1	a	a	S	X		a	S	S	† S	
	N	a1	X	X	a+	a	a a1	a	†	S	†	a	† X	X	a5	S	† X	a4	S	S	a		X	X	X	†	
Melk.reing.lsg	V											S	X			S											
	N											S			*a2			a									
Zitzenbecher	V					† X	†	†	S	†	†			S	S	X							S	S	S	†	
	N					a	a	a1	†	† X	†			a	X	†							a	a	X	†	
Tank		a					a1	†	†	†	S	a1	S		S	S							S	S	S	†	
Spühlwasser	V	†	S														X	a	S	S							
	N	†	a	S	S	S	S	S	X		S						X	a	a2	†	a						
Kuh	k1	k2	a	†	a	a	a2	a1	a	†	†	a	S	S	S	S	†	†	S	S	a	†	†	†	†	†	
	k3	k4	†	S	a+	†	a3	a1	a	†	S	S	S	S	S	S	a	S	a2	a1	S	†	†	S	†	S	

x	nicht amplifiziert
	nicht beprobt
X	mit Bacillus überwachsen/Schimmel/Proteu
†	(GPK) / (GNS) / Strepto / E.coli / C.bovis
S	Steril

S. succinus	S. sciuri	S. equorum
S. chromo	S. vitulus	S. pasteurii
S. fleuretii	S. aureus	S. epidermidis
S. gallinarum	S. haemo	S. simulans
S. sap/xylosus	S. cohnii	Rothia / Coryn.casei

Tab. 9b: Vorkommen und Verteilung der CNS Spezies vor (V) und nach (N) dem Melken pro Betrieb

		Betrieb F					Betrieb G					Betrieb H					Betrieb I					Betrieb J					
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Eutertuch	V	† X	†	†	†			S	†	S							S	†		S	†		S	S	a		
	N	a	a	a	† †			†	†	†					†	a	S	† X		a2	a		†	a			
Holzw/Hände	V							a	a	X	†	† X	a	a	a	a	a1							†	S	†	a
	N							a	†	x					a								†	† X	†	a1	
Dispenser	V	† X	a a	X	†			a	†	†	† X						X	†		a2	†		† X	a	a		
	N	a	† X	†	†					†							X			a3	X		† X	a			
Zitz.tauch	V	S	S	a	S												S	†		S	S	a	S	S	a a	S	
	N	† X	a a+	a	X												S	†	a	X	X	a	S	S	a	S	
Melk.reing.lsg	V	† X								S	†											a		S			
	N	a2																					S	S			
Zitzenbecher	V		†	† X	†			S	†	S			X	X	†	a	S	†		S	S						
	N		†	†	X			a	†	†		† X	† X	a	a	† X	a	† X	†	S	†						
Tank		S		S																		a					
Spühlwasser	V											S															
	N	a	S	S																			S		S	S	
Kuh	k1	k2	a	a	a1	a	a	a1	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	†	
	k3	k4	a	a	a2	a	a	a3	S	†																	

x	nicht amplifiziert
	nicht beprobt
X	mit Bacillus überwachsen/Schimmel/Proteu
†	(GPK) / (GNS) / Strepto / E.coli / C.bovis
S	Steril

S. succinus	S. sciuri	S. equorum
S. chromo	S. vitulus	S. pasteurii
S. fleuretii	S. aureus	S. epidermidis
S. gallinarum	S. haemo	S. simulans
S. sap/xylosus	S. cohnii	Rothia / Coryn.casei

### 6.2.1. Betriebsanalyse

In **Betrieb A** wurden 29 Stämme identifiziert. Er weist die höchste Speziesvarietät auf: 9 *S. saprophyticus*, 7 *S. chromogenes*, 5 *S. equorum*, 3 *S. fleuretii* und je ein *S. cohnii*, *S. aureus*, *S. sciuri*, *S. haemolyticus* und 1 *Corynebacterium casei*.

In den Milchproben wurden nur Stämme von *S. saprophyticus* und von *S. chromogenes* nachgewiesen. Ein Stamm von *S. saprophyticus* wurde beim ersten Besuch in der Milchprobe einer Kuh und beim dritten Besuch in der Milchprobe einer weiteren Kuh nachgewiesen. Der gleiche Genotyp wurde in der Probe von gelagerter Zitzentauchmittellösung gefunden. Ebenfalls wurde ein Stamm von *S. chromogenes* beim ersten Besuch in dem Zitzentauchmittel gefunden und konnte beim dritten und vierten Besuch in der Milch von zwei verschiedenen Tieren isoliert werden. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 68 Tagen (vom 22.02.2008 bis zum 30.04.2008) entnommen.

In **Betrieb B** wurden 17 Stämme identifiziert. 7 davon waren *S. saprophyticus*, 5 *S. sciuri*, 3 *S. fleuretii*, 1 *S. haemolyticus* und ein Stamm konnte nicht sequenziert werden. Betrieb B wurde in diese Studie aufgrund des plötzlichen Anstieges der Gesamtmilchzellzahl und wegen des Auftretens von mehreren subklinischen Mastitiden miteinbezogen. Dieser Betrieb benutzte keine desinfizierenden Eutertücher, sondern nur Holzwolle zur Reinigung der Zitzen vor dem Melken. Trotz der hohen Zellzahl waren die meisten Milchproben steril und nur bei einer Kuh konnte man ein einziges Mal einen Staphylokokkenstamm isolieren und identifizieren. Dabei handelte es sich um *S. haemolyticus*, welcher aber nur in Milch nachgewiesen wurde.

Auffallend in Betrieb B war, dass man in jeder Zitzentauchlösung (Lorasol®), welche bei jedem Besuch vor dem Melken beprobt wurde, immer wieder Staphylokokkenstämme nachweisen konnte. Einige davon wurden aber aufgrund ihrer Morphologie nicht weiter identifiziert. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 55 Tagen (vom 23.04.2008 bis zum 17.06.2008) entnommen.

In **Betrieb C** wurden 28 Stämme isoliert. 11 *S. saprophyticus*, 10 *S. sciuri*, 2 *S. succinus*, 2 *S. chromogenes*, 1 *S. vitulus/pulvereri*, 1 *S. gallinarum*, 1 *S. haemolyticus*.

Ein Stamm von *S. sciuri* wurde beim zweiten Besuch in einem desinfizierenden Eutertuch, in Holzwolle und auf dem Dispenser gefunden. Der gleiche Genotyp wurde sowohl in der Milchprobe einer Kuh beim ersten Besuch als auch in der Milchprobe einer weiteren Kuh beim vierten Besuch nachgewiesen. In diesem Betrieb konnte man sechs verschiedene Genotypen aus Materialproben in Milchproben unterschiedlicher Besuche nachweisen. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 196 Tagen (vom 06.03.2008 bis zum 18.09.2008) entnommen.

In **Betrieb D** wurden 26 Stämme identifiziert. Auffällig in diesem Betrieb war das häufige Vorkommen von *S. saprophyticus*. Insgesamt wurden nur vier verschiedene Spezies isoliert. 22 *S. saprophyticus*, 2 *S. pulvereri* und jeweils ein *S. sciuri* und ein *S. haemolyticus*.

In den Milchproben wurde nur ein Muster von *S. saprophyticus* nachgewiesen, welches auch im Eutertuch, auf dem Dispenser, im Zitzentauchmittel und im Spülwasser über mehrere Besuche hinweg gefunden wurde. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 54 Tagen (vom 13.02.2008 bis zum 07.04.2008) entnommen.

**Betrieb E** wurde wegen eines plötzlichen Anstieges der Zellzahl der Bestandesmilch und einem *S. aureus* Ausbruch ausgewählt. *S. aureus* wurde durch den Zukauf eines infizierten Tieres in den Bestand eingeschleppt. Es wurden insgesamt 12 Stämme isoliert: 11 *S. saprophyticus* und 1 *S. chromogenes*. Interessant war die Tatsache, dass trotz sicherer Anwesenheit von *S. aureus* dieser Keim in keiner Materialprobe morphologisch gefunden wurde. Beim zweiten Besuch wurde ein Stamm von *S. saprophyticus* sowohl in der frisch zubereiteten



Zitzentauchlösung wie auch im Zitzenbecher gefunden. Beim dritten Besuch konnte der gleiche Genotyp in einer Kuh, beim vierten Besuch in derselben sowie einer Weiteren, isoliert werden. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 57 Tagen (vom 17.07.2008 bis zum 12.09.2008) entnommen. Die Proben vom ersten Besuch konnten aus technischen Gründen nicht analysiert werden.

In **Betrieb F** wurden 27 Stämme isoliert. 16 davon waren *S. saprophyticus*, 7 *S. sciuri* und jeweils ein *S. cohnii*, *S. vitulus/pulvereri*, *S. succinus*, *S. equorum*. Auffallend in diesem Betrieb war das Vorkommen von *S. sciuri*. Der gleiche Genotyp konnte 7 Mal über einen Zeitraum von 47 Tagen in Milchproben verschiedener Kühe sowie auch in Eutertücher, Dispenser und Zitzentauchlösungen vor dem Melken isoliert werden. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 82 Tagen (vom 11.04.2008 bis zum 02.07.2008) entnommen. Die Proben vom fünften Besuch konnten aus technischen Gründen nicht analysiert werden.

In **Betrieb G** wurden 15 Stämme identifiziert. 7 davon waren *S. sciuri*, 5 *S. saprophyticus*, 2 *Corynebakterien* und 1 *S. pasteurii*. In der Milch von schalmpositiven Kühen wurden mehrmals Streptokokken und GNS nachgewiesen. Dieser Betrieb verwendet kein Zitzentauchmittel. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 43 Tagen (vom 28.07.2008 bis zum 09.09.2008) entnommen. Die Proben vom ersten Besuch konnten aus technischen Gründen nicht analysiert werden.

**Betrieb H** trifft keine zusätzlichen hygienischen Massnahmen vor dem Melken (weder die Desinfektion der Zitzen vor dem Melken mit feuchten, desinfizierenden Eutertücher, noch das Zitzentauchen) und unternimmt keine Fliegenbekämpfung im Sommer, sodass die Tiere stark von Fliegen belästigt werden und sich während der Melkzeit sehr unruhig verhalten. In diesem Betrieb

wurden 16 Stämme isoliert: 6 *S. sciuri*, 4 *S. saprophyticus*, 2 *S. vitulus* und je ein *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. pasteurii/warneri*. Ein Stamm konnte nicht sequenziert werden. Beim ersten Besuch reagierten 15 von 35 laktierenden Kühe im Schalmtest positiv und wurden deshalb beprobt. Alle 15 Kühe waren mit CNS befallen und 5 auch mit *C. bovis*. Beim zweiten Besuch wurden 13 Kühe beprobt, bei 10 wurde wieder CNS nachgewiesen. Ein Stamm von *S. sciuri* wurde in einer Milchprobe isoliert, welcher später beim dritten, vierten und fünften Besuch in Holzwolle, auf den Händen, im Zitzenbecher sowie in der Milchprobe einer weiteren Kuh nachgewiesen werden konnte. Beim zweiten Besuch stieg die Anzahl an beprobten Tieren auf 20 Kühe. In 15 Milchproben konnte man wiederholt CNS nachweisen. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 60 Tagen (vom 22.05.2008 bis zum 21.07.2008) entnommen.

In **Betrieb I** wurden 11 Stämme identifiziert. 7 waren *S. saprophyticus*, 3 *S. sciuri* und 1 *S. aureus*. Ein *S. saprophyticus* Stamm mit identischem Muster wurde beim dritten Besuch in einer verbrauchten Zitzentauchlösung isoliert und konnte beim vierten Besuch in einer Milchprobe erneut nachgewiesen werden. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 72 Tagen (vom 27.05.2008 bis zum 07.08.2008) entnommen.

In **Betrieb J** wurden 22 Stämme isoliert. 9 *S. saprophyticus*, 5 *S. equorum*, 3 *S. haemolyticus*, 2 *S. vitulus*, 2 *S. chromogenes* und 1 *Corynebacterium spp.* Auffällig bei diesem Betrieb war das Vorkommen von *S. equorum* in der Milchprobe von zwei verschiedenen Tieren beim dritten und vierten Besuch. *S. equorum* wurde beim ersten Besuch vor dem Melken in der Zitzentauchlösung und in der frisch vorbereiteten Melkgeschirreinigungslösung nachgewiesen. Ein Stamm von *S. haemolyticus* wurde beim dritten Besuch in der Zitzentauchlösung vor deren Anwendung ebenfalls isoliert und beim vierten Besuch in einer

Milchprobe erneut identifiziert. Die Proben wurden innerhalb einer Zeitspanne von 85 Tagen (vom 09.02.2008 bis zum 04.05.2008) entnommen.

## **6.2.2 Melkmaterial**

### **6.2.2.1. Eutertücher**

Bei den meisten Eutertüchern handelt es sich um mit Alkohol befeuchtete Einwegtücher. Nur in einem Betrieb (Betrieb D) wurden trockene Papiertücher zur Zitzenreinigung vor dem Melken angewendet. In diesem Betrieb konnte man aus Proben von Papiertüchern vor und nach deren Anwendung bei jedem Besuch CNS nachweisen. *S. saprophyticus* mit verschiedener Genotypisierungsmuster wurden dabei identifiziert. Insbesondere ein Genotyp wurde über mehrere Besuche sowohl in Dispenser-, Zitzentauchlösung-, Spülwasser- wie auch in den Milchproben nachgewiesen.

Insgesamt wurden 80 Proben von Eutertüchern genommen. Aus 10 Proben konnten keine Bakterienkolonien nachgewiesen werden. Bei weiteren 10 Proben handelte es sich genotypisch um die gleichen Stämme wie diejenigen, die in diesen Betrieben aus Milchproben isoliert werden konnten. Vier stammten aus Proben von Eutertüchern die frisch vom Dispenser entnommen wurden, d.h noch nicht benutzt wurden. Die anderen 6 stammten aus Proben von verbrauchten Eutertüchern.

Bei den auf den Eutertüchern isolierten Stämmen handelte es sich um 10 *S. saprophyticus*, 7 *S. sciuri* und je einen *S. fleuretii*, *S. equorum*, *S. saprophyticus* und *S. vitulus*.

### **6.2.2.2 Holzwolle/Hände**

Insgesamt wurden 33 Holzwoll-Proben und 7 Handproben aus fünf Betrieben gewonnen. Bei einer einzigen Holzwoll-Probe war das Ergebnis „steril“. Aus 19 Proben konnte man CNS isolieren. Bei vier Holzwolle-Proben handelte es sich genotypisch um die gleichen Stämme wie diejenigen, die in diesen Betrieben auch

aus Milchproben isoliert werden konnten. Zwei stammten aus gelagerter unbenutzter Holzwohle und zwei aus benutzter Holzwohle. Bei den isolierten Stämmen handelte es sich um 7 *S. sciuri*, 5 *S. saprophyticus* und je einen *S. succinus* und *S. haemolyticus*.

Betrieb H hat zwar Holzwohle zur Verfügung gehabt, hat sie aber selten angewendet und mit den Händen den Schmutz von der Zitze entfernt. Von 7 Handproben konnte man fünf CNS Stämme identifizieren. Dabei handelte es sich um 2 *S. sciuri*, 2 *S. saprophyticus* und 1 *S. vitulus/pulvereri*. Die *S. sciuri* Stämme, die man in Betrieb H von Handproben isoliert hatte, waren genotypisch identisch mit zwei Stämmen, die in zwei verschiedenen Milchproben nachgewiesen worden sind. Das gleiche gilt auch für eine der zwei *S. saprophyticus* Stämme.

#### **6.2.2.3. Dispenser**

Von 78 Dispenser-Proben wurden 30 CNS Stämme isoliert.

13 Milchproben enthielten die gleichen Stämme, die man von den Dispensern isoliert hat. Auffällig ist, dass diese Stämme immer auch auf anderen Proben vorkommen, entweder auf Eutertüchern oder in Holzwohle bzw. in Zitzentauchmittel. Dabei handelte es sich um 19 *S. saprophyticus*, 6 *S. sciuri*, 2 *S. cohnii*, 1 *S. succinus*, 1 *S. equorum* sowie 1 *S. gallinarum*.

#### **6.2.2.4. Zitzenbecher**

Von Zitzenbechern wurden insgesamt 68 Proben genommen. Aus 11 Proben konnte man CNS isolieren und genotypisieren. Fünf CNS Stämme wurden auch in Milchproben der jeweiligen Bestände nachgewiesen. Vier Stämme stammten aus Zitzenbechern, die am Ende des Melkvorgangs beprobt wurden, einer stammt aus einer Probe vor dem Melkvorgang.

In Betrieb B wurden ausser je einem Stamm *S. sciuri* und *S. fleuretii* oft GPK, *Bacillus spp.* und ein Mal Streptokokken aus den sauber gewaschenen und gelagerten Zitzenbechern nachgewiesen. Im Betrieb H konnte man je einen Stamm

*S. sciuri* und *S. saprophyticus* in den Milchproben und den Handproben des Melkers isolieren. Auch in diesem Betrieb konnte man GNS und *Bacillus spp.* aus Proben der Zitzenbecher vor dem Melken nachweisen.

#### **6.2.2.5. Melkgeschirrrreinigungslösung**

Insgesamt wurden 23 Proben von Melkgeschirrrreinigungslösung (MGRL) gewonnen. In zwei Milchproben konnte man die genotypisch gleichen CNS aus MGRL isolieren. Dabei handelte es sich um *S. saprophyticus*.

#### **6.2.2.6. Zitzentauchmittel**

Verschiedene Zitzentauchmittellösungen wurden angewendet. Von 10 Betrieben haben 8 Betriebe die Zitzen jeweils nach dem Melken in desinfizierende Lösungen getaucht. Keiner von diesen Betrieben hat einen Zitzenspray angewendet.

In Tabelle 5 sind die jeweils angewendeten Produkte dargestellt.

Insgesamt wurden 86 Zitzentauchmittelpuben aus den Tauchbechern gewonnen. Aus 23 Proben konnte man kein Keimwachstum feststellen. Aus 33 Proben wurden CNS isoliert, von welchen 21 Stämme auch in Milchproben nachgewiesen worden sind. Dabei handelt es sich um 8 verschiedene *S. saprophyticus* Stämme, 2 verschiedene *S. chromogens* Stämme und je einen Stamm *S. sciuri*, *S. equorum* und *S. haemolyticus*. Andere Stämme, die man im Zitzentauchmittel nachweisen konnte, die man aber nicht in Milchproben gefunden hat, sind *S. fleuretii* und *S. vitulus*.

In den restlichen 30 Proben hat man vorwiegend eine Überwucherung des Nährmediums mit *Bacillus spp.* festgestellt, in einigen Fällen wurden auch GNS und GPK nachgewiesen.

Aus den Tanks wurden 19 Dippmittelpuben gewonnen. Aus vieren konnte man CNS isolieren und in fünf Milchproben fand man genotypisch gleiche Stämme. Einer von diesen fünf Stämmen konnte man sonst nirgendwo isolieren, ein zweiter Stamm wurde auch in zwei Dispenserproben nachgewiesen und ein dritter wurde

auch in der Zitzentauchlösung und im Melkgeschirreinigungsmittel gefunden. Auffällig ist der Befund in Betrieb B. Das angewendete Dippmittel war Lorasol® und der Kanister wurde im Milchraum an einem scheinbar sauberen und trockenen Ort aufbewahrt. Die Lösung wird hier mit einer dazu bestimmten Pumpe aus dem Tank gewonnen, ohne dass man diesen immer wieder öffnen muss. Die Proben wurden direkt aus dem Tank entnommen und nicht aus der Pumpe. Von fünf Proben war nur eine steril. Aus den vier anderen konnte man *S. fleuretii* isolieren und verschiedene GNS und GPK.

## 7. DISKUSSION

In der vorliegenden Studie wurden verschiedene Gerätschaften, Reinigungs- und Desinfektionsmittel beim Melkakt auf Kontamination mit Erregern untersucht. Ziel dieser Arbeit war es einen möglichen Zusammenhang zwischen dieser Kontamination und der Euterinfektionen aufzuzeigen.

Dabei hat sich herausgestellt, dass die Gerätschaften, Reinigungs- und Desinfektionsmittel der jeweiligen Betriebe immer wieder mit verschiedenen CNS Spezies und Mischflora kontaminiert waren.

Zusätzlich liegen Daten vor die zeigen, dass Keime in den beprobten Materialien auch in der Milch von Mastitiskühen vorkommen.

### 7.1. Vorkommen und Verteilung der verschiedenen CNS

Die CNS Spezies, die am meisten in schalmpositiver Milch isoliert worden ist, war *S. saprophyticus*. Danach folgten *S. sciuri* und *S. chromogenes*.

Weitere CNS Spezies wurden in den Milchproben seltener gefunden. So wurden *S. haemolyticus*, *S. equorum*, *S. pasteurii*, *S. succinus*, *S. vitulus*, *S. simulans* nur sporadisch isoliert.

Dieses Ergebnis stimmt nur zum Teil mit zwei früheren Studien überein, in denen *S. chromogenes* (MATTHEWS et al., 1992) und *S. simulans* als in Mastitis-Milch am häufigsten vorkommende Spezies nachgewiesen wurden (RAJALA-SCHULTZ et al., 2004; TAPONEN et al., 2008). In einer anderen Studie wurde *S. xylosus* wiederum als eine der am häufigsten isolierten CNS Spezies nachgewiesen, unabhängig davon ob eine entzündliche Euterreaktion vorhanden war oder nicht (THORBERG, 2008). Die aufgeführten Studien lassen sich nur bedingt vergleichen.

Lüthje und Schwarz (2006) konnten wiederum *S. sciuri* und *S. xylosus* in ihrer Studie nur selten in Milch nachweisen.

Es ist überraschend, dass der Anteil an *S. simulans*, welcher in der Milch isoliert worden ist, in dieser Studie so niedrig war, ganz im Gegensatz zu den Studien von Rajala-Schultz (2004), Lüthje und Schwarz (2006), Taponen (2008) und Thorberg (2008). Die aufgeführten Studien lassen sich jedoch nur bedingt vergleichen.

Eine mögliche Erklärung dafür liegt in der verwendeten Analysemethode. Viele Kolonien wurden nicht weiter analysiert, wenn keine morphologischen Ähnlichkeiten zwischen Milchproben und Materialproben bestanden.

*S. saprophyticus* wurde häufig in Eutertüchern, auf Dispenser und in Zitzentauchlösungen nachgewiesen. *S. sciuri* wurde ebenfalls häufig in Eutertüchern sowie auf Holzwolle isoliert. Das häufige Vorkommen von *S. xylosus* überrascht nicht, da es sich um einen ubiquitär vorkommenden Keim handelt, welcher die Eigenschaft besitzt, Biofilme zu bilden. Ausser in den Milchproben wurde *S. chromogenes* nur in Zitzentauchlösungen gefunden.

*S. fleuretii*, *S. gallinarum* und *S. cohnii* wurden nie in Milchproben isoliert. In der Studie von Birgersson (1992) wurde *S. gallinarum* nur aus gesunden bovinen Vierteln isoliert.

*S. equorum* wurde vor allem in Zitzentauchlösungen nachgewiesen.

Weiter überrascht, dass man v.a. im Betrieb H, in dem mehrere Handproben gewonnen wurden, *S. epidermidis* und *S. haemolyticus* in Milchproben nicht isolieren konnte. Eine mögliche Erklärung dafür ist die geringe Anzahl der beprobten Melkutensilien in diesem Betrieb. In Betrieb H wurden 77 Kühe beprobt und bei 53 konnte man CNS nachweisen. Da in diesem Betrieb nie Eutertücher gebraucht wurde, nur selten Holzwolle angewendet wurde und kein Zitzentauchmittel eingesetzt wurde, konnte man nur 23 Proben von Händen, Zitzenbechern und Spülwasser entnehmen. Daraus konnte man bei 14 Proben CNS nachweisen. Nach dem morphologischen Vergleich wurden insgesamt 15 Stämme identifiziert und sequenziert. Daraus folgt, dass 52 Stämme nicht untersucht worden sind. In einer kürzlich erschienen Studie mit 298 CNS aus Fällen boviner subklinischer Mastitis in Deutschland wurden Isolate der Spezies *S. chromogenes*



(32.2%), *S. simulans* (23.2%) und *S. epidermidis* (11.7%) am häufigsten nachgewiesen (LUTHJE und SCHWARZ, 2006).

## **7.2. Melkmaterial**

### **7.2.1. Eutertücher**

In der Regel werden Eutertücher in grossen Packungen als Einwegeutertücherrollen verkauft. Diese werden in einer alkoholhaltigen Lösung getränkt und im Stall in einem geschlossenen Behälter gelagert und innerhalb von 2-3 Wochen aufgebraucht. Es wäre möglich, dass schon nach 2-3 Tagen die Wirkung dieser alkoholhaltigen Lösung stark abnimmt, wenn nicht sogar ganz verschwindet. Beweisend für diese Annahme könnte das häufige Vorkommen von Gram positiven Kokken, Gram negativen Stäbchen, *Bacillus spp.*, *Proteus* und Schimmel, die in dieser Studie auf frisch vom Dispenser entnommenen Tüchern nachgewiesen worden sind, sein.

### **7.2.2. Holzwolle/Hände**

Die Holzwolle wurde oft in der ursprünglichen Packung trocken und offen im Stall gelagert. Beim Melkvorgang wurde die nötige Menge an Holzwolle in den Gürtel des Melkers geklemmt und jeweils die Zitzen je nach Verschmutzungsgrad gereinigt. Meistens wurde die Holzwolle bei jedem Tier neu gewechselt.

Die Holzwolle kann durch die Betastung mit schmutzigen Händen verunreinigt werden. Auch die Luftfeuchtigkeit im Stall hat möglicherweise einen begünstigenden Einfluss auf das Keimwachstum. Während der Studie wurden auch ungünstige Lagerorte wie z.B. hinter den Kühen auf den Fensterbrettern beobachtet.

### **7.2.3. Dispenser**

Die Stämme die man in Dispensern sowie in der Milch gefunden hat, kamen immer auch in anderen Proben vor, entweder von Eutertüchern oder von der

Holzwolle bzw. im Tauchmittel. Die am häufigsten vorkommende Spezies ist *S. saprophyticus*, ein ubiquitärer Keim mit der Fähigkeit, Biofilme zu bilden. Demzufolge kann man annehmen, dass kontaminierte Dispenser eine Quelle für IMI mit CNS darstellen.

#### **7.2.4. Zitzenbecher**

In Betrieb I wurden die Zitzenbecher nach jeder gemolkenen Kuh automatisch mit heissem Wasser gespült. Der positive Effekt dieser Massnahme war ein höherer Anteil an sterilen Proben aus der Menge der zufällig gewählten Zitzenbecher.

Die eine Hälfte der Betriebe wäscht für gewöhnlich nach dem Melkvorgang am Morgen mit Reinigungslösung ihre Melkanlage, die andere Hälfte am Abend.

Dadurch ist es möglich, dass nicht alle Erreger, die sich in den Zitzenbechern befinden, abgetötet und/oder inaktiviert werden und dass diese weiter persistieren und/oder sich im Restwasser weiter vermehren können und später beim Melkvorgang in die Milch gelangen und damit ein Risiko für die Sicherheit der Lebensmittelherstellung darstellen.

#### **7.2.5. Zitzentauchmittel**

In jedem untersuchten Betrieb konnte man in den jeweiligen Zitzentauchmitteln, aus dem Dippbecher entnommen, unabhängig von deren Zusammensetzung, persistierende Keime nachweisen.

Von 8 Betrieben, die ein Dippmittel angewendet haben, konnte man in 7 auch in den Milchproben einen gleichen Stamm nachweisen.

Bei einigen Besuchen ist aufgefallen, dass bei der Herstellung der Gebrauchslösung von Lorasol® aus dem Konzentrat zuviel Wasser verwendet wurde, womit eine verdünnte Zitzentauchlösung entstanden ist. Die angefertigten Tauchlösungen wurden z.T. sowohl während der Morgenmelkung als auch abends nochmals angewendet. Die Tauchlösungen, die man vor dem abendlichen Melken beprobt hatte, waren demnach nicht immer frische Lösungen. Betrieb C hat bei

den ersten drei Besuchen die Tauchlösung in den Tauchbechern immer wieder nachgefüllt. Teilweise wurde auch die Verfallsfrist nicht beachtet. Meistens handelte es sich um 25 l Kanister, welche innert vier bis fünf Monaten aufgebraucht werden sollten. Die meisten davon sind mit einem Rohr auf dem Deckel ausgestattet, an welchem man mittels eines Ventils den Kanister öffnen und schliessen kann. Andere besitzen eine Pumpe. Beide werden mit den blossen Händen berührt und sind der Stall- oder Milchzimmerluft bzw. dem Staub ausgesetzt. Zum Teil entnehmen die Melker einen Liter der fertigen Lösung und füllen sie in einen zweiten, kleineren Kanister, welchen sie vorher mit Seifenwasser ausgewaschen haben, dann im Melkstand gelagert wird bis der Inhalt fertig aufgebraucht ist. Mit dem Inhalt dieses zweiten Kanisters füllen sie die Zitzentauchbecher, die sie vorher ebenfalls mit Seifenwasser ausgewaschen haben. Es ist klar, dass überverdünnte Tauchlösungen ihre Wirkung auf die Mikroorganismen für die sie bestimmt sind nicht zuverlässig entfalten können. Verunreinigte Kanisterausgänge stellen eine Kontaminationsgefahr für das frisch entnommene Dippmittel dar. Je grösser der Verschmutzungsgrad des Tauchmittels ist, desto geringer ist seine desinfizierende Wirkung. Diese Beobachtungen wurden aber selten gemacht. In den meisten Fällen wurde die Gebrauchslösung richtig hergestellt, gemäss den Hinweisen des Herstellers, sie wurden korrekt gelagert und die Gebrauchslösungen wurden täglich neu hergestellt. Nur selten (je nach Bestandesgrösse) wurden die Tauchlösungen nach jeder Melkzeit frisch hergestellt. Nicht immer wurden die Restmengen entsorgt. Rückführen dieser Restmengen birgt die Gefahr einer Rekontamination.

Bei allen angewandten Dippmitteln handelt es sich um Jod- und Glycerinhaltige Euterschutzmittel. Die Jodkomponente dient dabei der Vernichtung von Bakterien, die Glycerinkomponente dient der Erhaltung einer geschmeidigen Euterhaut. Wieso die Jodkomponente in diesen Tauchmitteln die Bakterien nicht abtötete, könnte man mit einer Überschreitung der Aufbrauchfrist der offenen Dipplösung und/oder mit einer Verschmutzung der Dipplösung erklären.

Ein für verschiedene Tiere verwendeter Dippbecher stellt ebenfalls eine Infektionsquelle für die Milchdrüse dar. Van Damme (1982) stellte fest, dass eine Kontamination des Dippmittels und des Dippbechers mit *Serratia marcescens* zu einer Erhöhung der Mastitisinzidenz führt. Die klinischen Euterinfektionen wurden in diesem Falle von demselben Erreger hervorgerufen.

Der Nachweis von CNS in kontaminierten Zitzentauchmitteln in dieser Arbeit unterstützt die Studie von Westfall und Mitarbeiter (1987), welche teilweise eine starke Kontamination der Dippbecher beim Routineeinsatz im Melkstand aufzeigte.

Drei der in dieser Studie untersuchten Betriebe wendeten rezirkulierende Zitzentauchbecher an. Durch dieses System wird die Lösung, die mit der Zitzenhaut in Kontakt gekommen ist, mit der sauberen Lösung in der Flasche gemischt. Nichtzirkulierende Zitzentauchbecher halten die Tauchlösung, die mit der Zitzenhaut in Kontakt gekommen ist, durch einen getrennten Behälter, vom Rest des Becherinhaltes getrennt. Gemäss dem National Mastitis Council (NMC) ist diese Methode zu bevorzugen (NICKERSON, 2001).

Eine andere Möglichkeit Zitzen nach dem Melken zu desinfizieren, ist das Sprühverfahren. Dieses hat den Vorteil eine Kontamination der Zitzen mit organischem Material zu vermeiden, da das Desinfektionsmittel im Reservoirbehälter vor der Applikation nicht verschmutzt werden kann (MILNE, 1977). Eine Studie rät von einem Handdippverfahren ab, wenn die Rate an intramammären Infektionen in einer Herde grösser als 40% ist (WESTFALL et al., 1987). Als Nachteil des Sprühverfahrens ist das Entstehen von Sprühschatten und damit ein unvollständiges Benetzen der Zitze mit Desinfektionsmittel zu nennen (FARNSWORTH, 1980).

Der Nachweis von CNS in zwei Tankproben von Betrieb B und C zeigt aber, dass auch in erst seit fünf Tagen offenen Kanistern Keime in der desinfizierenden Lösung persistieren können. Das kann an der Tatsache liegen, dass Jod früher biologisch abgebaut wird als von Swissmedic festgehalten.

Daraus folgt, dass rezirkulierte Dippmittel in kleineren Mengen gebraucht nach jeder Melkzeit weggeworfen werden müssen.

## 8. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die Eingangs gestellten Fragen können folgendermassen beantwortet werden: Die Keime, die auf den Zitzentüchern, in der Zitzentauchlösung, auf den Zitzenbechern, in der Holzwolke und in der Melkgeschirreinigungslösung nachweisbar waren, wurden auch in der Milch einzelner Kühe nachgewiesen. Dabei handelte es sich um euterassoziierte Erreger die bedingt pathogen sein können. Umweltassoziierte Keime wurden nur sporadisch in Milch und in einigen Gerätschaften isoliert. Die häufigsten CNS in der Milch einzelner Kühe waren *S. saprophyticus*, *S. sciuri* und *S. chromogenes*. Relativ häufig isoliert wurden bei der Kontamination von geöffnetem und im Betrieb gelagertem Material *S. fleuretii*, *S. vitulus*, *S. equorum*, *S. sciuri*, *S. haemolyticus*, *S. succinus* und *S. saprophyticus*.

Bei einigen Tieren wurden spezifische CNS mehrmals beobachtet. Die Ursachen dazu müssen durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Zum Teil wurden Reinigungs- und Desinfektionsmittel nicht immer korrekt gelagert bzw. hergestellt. Auch bei neu geöffneten Zitzentauchlösungen konnte man CNS nachweisen.

Diese Arbeit soll nicht vor dem Gebrauch von Zitzendesinfektions- und Zitzenreinigungsmittel warnen, sondern zeigt auf, dass diese richtig gelagert und angewendet werden müssen.

## 9. LITERATURVERZEICHNIS

- AARESTRUP F. M. and N. E. JENSEN. (1997). Prevalence and Duration of Intramammary Infection in Danish Heifers During the Peripartum Period. *J Dairy Sci* 80(2):307-312.
- AARESTRUP F. M., H. C. WEGENER, V. T. ROSDAHL and N. E. JENSEN. (1995). Staphylococcal and other bacterial species associated with intramammary infections in Danish dairy herds. *Acta Vet Scand* 36(4):475-487.
- ANONYM. (1996). Verordnung des EVD vom Januar 1996 über die Qualitätssicherung in der Milchproduktion (VQSMP).
- ANONYM. (2001). Povidone-Iodine. Infomed Online <http://www.infomed.org/100drugs/iodphar.html>.
- ANONYM. (2005). Verordnung des EVD vom 23. November 2005 über die Hygiene bei der Milchproduktion (VHyMP). [http://www.admin.ch/ch/d/sr/c916\\_351\\_021\\_1.html](http://www.admin.ch/ch/d/sr/c916_351_021_1.html).
- ANONYM. (2008). Eutergesundheit als Bestandesproblem. <http://www.ag-fuer-tiergesundheits.ch/?Downloads>.
- ARMSTRONG W. M. (1957). Surface active agents and cellular metabolism. I. The effects of cationic detergent on the production of acid and of carbon dioxide by bakers yeast. *Arch Biochem* p.71.
- BARKEMA H. W., Y. H. SCHUKKEN, T. J. G. M. LAM, M. L. BEIBOER, G. BENEDICTUS and A. BRAND. (1999). Management Practices Associated with the Incidence Rate of Clinical Mastitis. *J Dairy Sci* 82(8):1643-1654.
- BIRGERSSON A., P. JONSSON and O. HOLMBERG. (1992). Species identification and some characteristics of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine udders. *Vet Microbiol* 31(2-3):181-189.
- BLACK R. T., R. T. MARSHALL and C. T. BOURLAND. (1972). Locus of Mammary Gland Infections of *Corynebacterium bovis*. *J Dairy Sci* 55(4):413-416.
- BLOWEY R. and P. EDMONDSON. (1996). Teat disinfection in dairy herds. In *Pract* 18(6):254-260.

- BRADLEY A. J. (2002). Bovine Mastitis: An Evolving Disease. *Vet J* 164:116-128.
- BRAMLEY A. J. and F. H. DODD. (1984). Reviews of the progress of dairy science: Mastitis control- progress and prospects. *J Dairy Res* 51:481-512.
- BRAMLEY A. J., K. S. GODINHO and R. J. GRINDAL. (1981). Evidence of penetration of the bovine teat duct by *Escherichia coli* in the interval between milkings. *J Dairy Res* 48(3):379-386.
- CAIMAN R. and J. MURRAY. (1956). Antiseptics in midwifery. *Br Med J* 2:200.
- COMPTON C. W. R., C. HEUER, K. PARKER and S. MCDUGALL. (2007). Epidemiology of Mastitis in Pasture-Grazed Peripartum Dairy Heifers and Its Effects on Productivity. *J Dairy Sci* 90(9):4157-4170.
- DE VliegHER S., G. OPSOMER, A. VANROLLEGHEM, L. A. DEVRIESE, O. C. SAMPIMON, J. SOL, H. W. BARKEMA, F. HAESBROUCK and A. DE KRUIF. (2004). In vitro growth inhibition of major mastitis pathogens by *Staphylococcus chromogenes* originating from teat apices of dairy heifers. *Vet Microbiol* 101(3):215-221.
- DEINHOFER M. and A. PERNTHANER. (1995). *Staphylococcus* spp. as mastitis-related pathogens in goat milk. *Vet Microbiol* 43(2-3):161-166.
- DODD F. H., D. R. WESTGARTH and T. K. GRIFFIN. (1977). Strategy of mastitis control. *J Am Vet Assoc* 170(10 Pt 2):1124-1128.
- DODD F. H., D. R. WESTGARTH, F. K. NEAVE and R. G. KINGWILL. (1969). Mastitis-the strategy of control. *J Dairy Sci* 52(5):689-695.
- DORDET-FRISONI E., G. DORCHIES, C. DE ARAUJO, R. TALON and S. LEROY. (2007). Genomic Diversity in *Staphylococcus xylosus*. *Appl Environ Microbiol* 73(22):7199-7209.
- DUPREEZ J. H. (1987). The effect of post-milking teat dipping on teat canal infections. *J S Afr Vet Assoc* 58(3):119-123.
- DVG. 2002. Sachverständigenausschuß "subklinische Mastitis" der Fachgruppe Milchhygiene: Leitlinien zur Bekämpfung der Mastitis des Rindes als Bestandsproblem. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft. 4. Auflage, Hannover



- DVG. (2006). Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für den Lebensmittelbereich Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft.
- EBERHART R. J., L. J. HUTCHINSON and S. B. SPENCER. (1982). Relationships of bulk tank somatic cell counts to prevalence of intramammary infections and to indices of herd production. *J Food Prot* 45:1125-1128.
- EDMONDSON P. (2001). Influence of milking machines on mastitis. In *Pract* 23(3):150-159.
- EGLI J. (2007). Der Eutergesundheit auf der Spur. "Die Grüne", Fachmagazin der Schweizer Landwirtschaft:12-15.
- EICHER R., B. LUTZ, L. GERBER and M. KIRCHHOFER. (1997). *Staphylokokkus aureus* Mastitis - gibt es Lösungen? Rindergesundheitsdienst; [http://wwwrgdch/RGDPDF/publikationen/staphylokokkus\\_aureus\\_0510pdf](http://wwwrgdch/RGDPDF/publikationen/staphylokokkus_aureus_0510pdf).
- EWY A. (2003). Melkvorbereitung der Milchkuh. *UFA-Revue* 5/03.
- FALKENBERG U. (2002). Untersuchungen zum Einsatz verschiedener Zitzendippverfahren in der Melkhygiene. Dissertation Nr 2582, Berlin.
- FARNSWORTH R. J. (1980). Role of teat dips in mastitis control. *J Am Vet Med Assoc* 176(10 Spec No):1116-1118.
- FAVERO M. S. (1982). Iodine--champagne in a tin cup. *Infect Control* 3(1):30-32.
- FELDMANN M., A. ZIMMERMANN and M. HOEDEMAKER. (2006). Influence of milking technique, milking hygiene and environmental hygiene parameters on the microbial contamination of milking machines. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 113(7):274-281.
- FOX L. K. and J. M. GAY. (1993). Contagious mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 9(3):475-487.
- FOX L. K., J. A. NAGY, J. K. HILLERS, J. D. CRONRATH and D. A. RATKOWSKI. (1991). Effects of postmilking teat treatment on the colonisation of *Staphylococcus aureus* in chapped teat skin. *Am J Vet Res* 52(6):799-802.

- FRANK H. K. 1994. Lexikon Lebensmittel-Mikrobiologie. Behr's, editor. Hamburg. 203-204.
- GALTON D. M., R. W. ADKINSON, C. V. THOMAS and T. W. SMITH. (1982). Effects of Premilking Udder Preparation on Environmental Bacterial Contamination of Milk. J Dairy Sci 65(8):1540-1543.
- GALTON D. M., L. G. PETERSON and W. G. MERRILL. (1988). Evaluation of Udder Preparations on Intramammary Infections. J Dairy Sci 71(5):1417-1421.
- GALTON D. M., L. G. PETERSSON, W. G. MERRILL, D. K. BANDLER and D. E. SHUSTER. (1984). Effects of Premilking Udder Preparation on Bacterial Population, Sediment, and Iodine Residue in Milk. J Dairy Sci 67(11):2580-2589.
- GERSHENFELD L. 1977. Iodine in Disinfection, sterilization, and preservation. 2nd ed. S. S. Black, ed. Lea & Febiger, PA
- GODHINO K. S., AND A. J. BRAMLEY. (1980). The efficacy of teat dips of differing persistence on teat skin in preventing intramammary infection by *Streptococcus uberis* and *Escherichia coli* in dry cows. Br Vet J 136(6):574-579.
- GOLDBERG J. J., P. A. MURDOUGH, A. B. HOWARD, P. A. DRECHSLER, J. W. PANKEY, G. A. LEDBETTER, D. A. RICHARDS and L. L. DAY. (1994). Evaluation of a 1% iodophor postmilking teat sanitizer. J Dairy Sci 77(3):740-747.
- GRABER H., J. NASKOVA, E. STUDER, T. KAUFMANN, M. KIRCHHOFER, M. BRECHBÜHL, W. SCHAEREN, A. STEINER and C. FOURNIER. (2009). Mastitis-related subtypes of bovine *Staphylococcus aureus* are characterized by different clinical properties. J Dairy Sci 92(4):1442-1451.
- GRAY D. M. and O. W. SCHALM. (1960). Interpretation of the California Mastitis Test results on milk from individual mammary quarters, bucket milk, and bulk herd milk. J Am Vet Med Assoc 1(136):195-198.
- GRÖHN Y. T., D. J. WILSON, R. N. GONZALEZ, J. A. HERTL, H. SCHULTE, G. BENNETT and Y. H. SCHUKKEN. (2004). Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. J Dairy Sci 87(10):3358-3374.

- GUTIERREZ L. M., M. L. GARCIA LOPEZ, A. OTERO, M. C. GARZIA FERNANDEZ and MORENO B. (1990). Incidence of staphylococci in ovine mastitic milk and antibiotic susceptibility of the strains. *Milchwiss* 45:778-781.
- HALTIA L., T. HONKANEN-BUZALSKI, I. SPIRIDONOVA, A. OLKONEN and V. MYLLYS. (2006). A study of bovine mastitis, milking procedures and management practices on 25 Estonian dairy herds. *Acta Vet Scand* 48:22-27.
- HARMON R. J. (1994). Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *J Dairy Sci* 77(7):2103-2112.
- HARMON R. J. and B. E. LANGLOIS. (1989). Mastitis due to coagulase-negative *Staphylococcus* species. *Agri Practice* 10:29-34.
- HEESCHEN W. and J. HAMANN. (1987). Die Bedeutung der Zitzendesinfektion im Rahmen der Mastitisbekämpfung. *Tierärztl Umsch* 42:362-369.
- HILLERTON J. E. Balancing Mastitis and Quality; 1999. Proceedings of the British Mastitis Conference. p 31-36
- HOEDEMAKER H., A. SCHMIDT, B. KELLER, E. BLECKMANN and K. H. BÖHM. (2006). Isolation von Hefen aus Milch von Kühen mit Mastitis und aus Tupferproben von der Melkanlage. *Prakt Tierarzt* 87(11):890-898.
- HOGAN J. S., J. W. PANKEY and A. H. DUTHIE. (1987a). Growth Responses of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* to *Corynebacterium bovis* Metabolites. *J Dairy Sci* 70(6):1294-1301.
- HOGAN J. S., K. L. SMITH, D. A. TODHUNTER and P. S. SCHOENBERGER. (1995). Efficacy of Barrier teat dip containing 55% chlorhexidine for prevention of bovine mastitis. *J Dairy Sci* 78(11):2502–2506.
- HOGAN J. S., D. G. WHITE and J. W. PANKEY. (1987). Effects of Teat Dipping on Intramammary Infections by Staphylococci other than *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci* 70(4):873-879.
- HUXLEY J. N., M. J. GREEN and A. J. BRADLEY. (2003). *Corynebacterium bovis* - Friend or Foe? Proceeding of the British Mastitis Conference, Garstang, 23-24.

- KING J. S., K. S. GODINHO and A. J. BRAMLEY. (1981). Testing and efficacy of teat skin disinfectants. ed Academic Press, New York, NY 31 Kingwil, RG 1973, 159.
- KLAAS I. C. (2000). Untersuchungen zum Auftreten von Mastitiden und zur Tiergesundheit in 15 Milchviehbetrieben Schleswig-Holsteins. Dissertation, FU Berlin.
- KLOOS W. E. (1980). Natural Populations of the Genus *Staphylococcus*. Ann Rev Microbiol 34(1):559-592.
- KROEMKER V. (2005). Gesunde Euter - Gesunde Milch. Eutergesundheit-Massnahmen zur Mastitisbekämpfung. Intervet Deutschland GmbH.
- LAEVENS H., H. DELUYKER, Y. H. SCHUKKEN, L. DE MEULEMEESTER, R. VANDERMEERSCH, E. DE MUECARONLENAERE and A. DE KRUIF. (1997). Influence of Parity and Stage of Lactation on the Somatic Cell Count in Bacteriologically Negative Dairy Cows. J Dairy Sci 80(12):3219-3226.
- LAM T. J., Y. SCHUKKEN, J. VAN VLIET, F. GROMMERS, M. J. TIELEN and A. BRAND. (1997). Effect of natural infection with minor pathogens on susceptibility to natural infection with major pathogens in the bovine mammary gland. Am J Vet Res 58(1):17-22.
- LARSEN H. D., K. H. SLOTH, C. ELSBERG, C. ENEVOLDSEN, L. H. PEDERSEN, N. H. R. ERIKSEN, F. M. AARESTRUP and N. E. JENSEN. (2000). The dynamics of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in nine Danish dairy herds. Vet Microbiol 71(1-2):89-101.
- LONGWORTH A. R. (1971). Chlorhexidine. Page 95 in Inhibition and destruction of the bacterial cell W B Hugo, ed Academic Press, New York, NY.
- LUTHJE P. and S. SCHWARZ. (2006). Antimicrobial resistance of coagulase-negative *staphylococci* from bovine subclinical mastitis with particular reference to macrolide-lincosamide resistance phenotypes and genotypes. J Antimicrob Chemother 57(5):966-969.
- MATTHEWS K. R., R. J. HARMON and B. E. LANGLOIS. (1991). Effect of Naturally Occurring Coagulase-Negative Staphylococci Infections on New Infections by Mastitis Pathogens in the Bovine. J Dairy Sci 74(6):1855-1859.

- MATTHEWS K. R., R. J. HARMON and B. E. LANGLOIS. (1992). Prevalence of *Staphylococcus* Species During the Periparturient Period in Primiparous and Multiparous Cows. J Dairy Sci 75(7):1835-1839.
- MCDONALD J. S. (1970). Prevention of intramammary infections by milking time hygiene. Am J Vet Res 31(2):233-240.
- MEYER B. (2006). Does microbial resistance to biocides create a hazard to food hygiene? Int J Food Microbiol 112(3):275-279.
- MILNE J. R. (1977). Teat spraying an alternative to teat dipping. Hoard's Dairyman 122, 1252-1257.
- MIRAGAIA M., J. C. THOMAS, I. COUTO, M. C. ENRIGHT and H. DE LENCASRE. (2007). Inferring a Population Structure for *Staphylococcus epidermidis* from Multilocus Sequence Typing Data. J Bacteriol 189(6):2540-2552.
- NAGASE N., A. SASAKI, K. YAMASHITA, A. SHIMIZU, Y. WAKITA, S. KITAI and J. KAWANO. (2002). Isolation and species distribution of staphylococci from animal and human skin. J Vet Med Sci 64(3):245-250.
- NEAVE F. K. (1971). The control of mastitis by hygiene. Dodd, F H und Jackson, E R (ed) The control of bovine mastitis; papers given at a meeting organised by the British cattle veterinary association and the Agricultural development association, held at reading University, January 5-6, 1971, 55.
- NEAVE F. K., F. H. DODD, R. G. KINGWILL and D. R. WESTGARTH. (1969). Symposium: Mastitis Control: Control of Mastitis in the Dairy Herd by Hygiene and Management. J Dairy Sci 52(5):696-707.
- NEWBOULD F. and D. BARNUM. (1956 ). Studies In Sanitation In Micrococcal Mastitis. I. Teat-Cup Dipping. Can J Comp Med Vet Sci 20(4):130-138.
- NEWTON B. A. (1958). The strategy of chemotherapy - surface active bactericides. 8th Symp Soc Gen Microbiol, Cambridge Univ Press.
- NICKERSON S. C. (2001). Choosing the best Teat Dip for Mastitis Control and Milk Quality NMC-PDPW Milk Quality Conference Proceedings, April 2001, 43
- NOORDHUIZEN J. (2007). CCP's auf dem Milchviehbetrieb. Kursunterlagen.

- OLIVER S. P., M. J. LEWIS, S. H. KING, B. E. GILLESPIE, T. INGLE, K. R. MATTHEWS, H. H. DOWLEN, P. A. DRECHSLER, E. E. WILDMANN and J. W. PANKEY. (1991). Efficacy of a low concentration iodine postmilking teat disinfectant against contagious and environmental mastitis pathogens in two dairy herds. *J Food Prot* 54(7):737-742.
- PALLAS S. (2002). Analyse von Eutergesundheit und Rohmilchqualität im automatischen Melksystem. Dissertation, Freien Universität Berlin.
- PANKEY J. W. (1989). Premilking Udder Hygiene. *J Dairy Sci* 72(5):1308-1312.
- PANKEY J. W., P. A. DRECHSLER and E. E. WILDMAN. (1991). Mastitis Prevalence in Primigravid Heifers at Parturition. *J Dairy Sci* 74(5):1550-1552.
- PANKEY J. W., R. J. EBERHART, A. L. CUMING, R. D. DAGGETT, R. J. FARNSWORTH and C. K. MCDUFF. (1984). Uptake on Postmilking Teat Antisepsis. *J Dairy Sci* 67(6):1336-1353.
- PANKEY J. W., S. C. NICKERSON, R. L. BODDIE and J. S. HOGAN. (1985). Effects of *Corynebacterium bovis* infection on susceptibility to major mastitis pathogens. *J Dairy Sci* 68(10):2684-2693.
- PETERS C. and G. PULVERER. (1988). Die Familie der Micrococcaceae, Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie. 6 Auflage, Gustav Fischer-Verlag, 1988.
- POUTREL B., F. SERIEYS and M. DUCCELLIEZ. (1990). Efficacy of a germicidal post milking barrier-type teat dip in preventing intramammary infections. *Vet Rec* 126(26):638-640.
- PRINCE H. H., W. S. NONEMAKER, R. C. NORGARD and D. L. PRINCE. (1978). Drug resistance studies with topical antiseptics. *J Pharm Sci* 67(11):1629-1631.
- PUTMAN F. W. (1948). The interaction of protein and synthetic detergens. *Adv Protein Chem* 4:79.
- RADOSTITS O. M., C. C. GAY, K. W. HINCHCLIFF and P. D. CONSTABLE. (2008). Veterinary Medicine - A Textbook of the diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats. Saunders Elsevier Ltd (9th Edition), 674.

- RAJALA-SCHULTZ P. J., K. L. SMITH, J. S. HOGAN and B. C. LOVE. (2004). Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. *Vet Microbiol* 102(1-2):33-42.
- ROESCH M., M. D. DOHERR, W. SCHAREN, M. SCHALLIBAUM and J. W. BLUM. (2007). Subclinical mastitis in dairy cows in Swiss organic and conventional production systems. *J Dairy Res* 74(1):86-92.
- SCHUENCK R. P., E. M. PEREIRA, N. L. IORIO and K. R. DOS SANTOS. (2008). Multiplex PCR assay to identify methicillin-resistant *Staphylococcus haemolyticus*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 52(3):431-435.
- SCHUKKEN Y. H., F. J. GROMMERS, D. VAN DE GEER, H. N. ERB and A. BRAND. (1991). Risk Factors for Clinical Mastitis in Herds with a Low Bulk Milk Somatic Cell Count. 2. Risk Factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci* 74(3):826-832.
- SCHUKKEN Y. H., K. E. LESLIE, D. A. BARNUM, B. A. MALLARD, J. H. LUMSDEN, P. C. DICK, G. H. VESSIE and M. E. KEHRLI. (1999). Experimental *Staphylococcus aureus* Intramammary Challenge in Late Lactation Dairy Cows: Quarter and Cow Effects Determining the Probability of Infection. *J Dairy Sci* 82(11):2393-2401.
- SCHULZ J., K. BOSTEDT, H. MIELKE and H.-W. FUCHS. (1994). Euter- und Gesäugekrankheiten. Gustav Fischer Verlag, Jena/Stuttgart.
- SCVPH. Benefits and limitations of antimicrobial treatments for poultry carcasses. In: Europ. Comm. Dir.- Gen. XXIV DB, Scientific Health Opinions, Unit B3- Management of, II SC, editors; 1998; Brussels. Scientific Committee on Veterinary measures relating to Public Health (SCVPH), 1-49.
- SEEGERS, C. FOURICHON and F. BEAUDEAU. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 34(5):475-491.
- SHETTY M. and T. B. GOWDA. (2004). A Study of Substituent Effect on the Oxidative Strengths of N-Chloroarenesulphonamides: Kinetics of oxidation of Leucine and Isoleucine in Aqueous Acid Medium. *Z Naturforsch B* 63-72.
- SMITH K. L. and J. S. HOGAN. (1995a). Epidemiology of mastitis. proceeding of the third IDF International Mastitis Seminar, Tel-Aviv, Israel, 3-13.

- SMITH K. L. and J. S. HOGAN. (1995b). Strategies to control contagious Mastitis Pathogens. <http://www.veterinaria.uchile.cl/publicacion>
- SMITH K. L. and J. S. HOGAN. (2001). The world of mastitis. Published in the Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC, Canada, 1-12.
- SMITH K. L., D. A. TODHUNTER and P. S. SCHOENBERGER. (1985). Environmental Mastitis: Cause, Prevalence, Prevention. J Dairy Sci 68(6):1531-1553.
- STEPHAN R. (2006). Grundlagen der Reinigung und Desinfektion in Lebensmittelbetrieben: Systeme, Wirksubstanzen, Wirkmechanismen. Mitt Lebensm Hyg 97, 191-197.
- TAPONEN S., J. BJÖRKROTH and S. PYÖRÄLÄ. (2008). Coagulase-negative *staphylococci* isolated from bovine extramammary sites and intramammary infections in a single dairy herd. J Dairy Res 75(4):422-429.
- TAPONEN S., J. KOORT, J. BJORKROTH, H. SALONIEMI and S. PYORALA. (2007). Bovine Intramammary Infections Caused by Coagulase-Negative *Staphylococci* May Persist Throughout Lactation According to Amplified Fragment Length Polymorphism-Based Analysis. J Dairy Sci 90(7):3301-3307.
- TAPONEN S., H. SIMOJOKI, M. HAVERI, H. D. LARSEN and S. PYÖRÄLÄ. (2006). Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative *staphylococci* identified with API or AFLP. Vet Microbiol 115(1-3):199-207.
- THORBERG B. M. (2008). Coagulase-Negative *Staphylococci* in Bovine Sub-Clinical Mastitis. Department of Biomedical Sciences and Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Swedish University of Agricultural Sciences [http://diss-epsilon.slu.se/archive/00001803/01/Thorberg\\_B\\_080908.pdf](http://diss-epsilon.slu.se/archive/00001803/01/Thorberg_B_080908.pdf).
- TIMMS L. L. (1997). Efficacy of barrier teat dips in preventing dry period mastitis. Proc of the National Mastitis Council, Regional Meeting, Syracuse, NY, USA, 10-17.
- TIMMS L. L. and L. H. SCHULTZ. (1987). Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. J Dairy Sci 70(12):2648-2657.



- TRINIDAD P., S. C. NICKERSON and T. K. ALLEY. (1990). Prevalence of Intramammary Infection and Teat Canal Colonization In Unbred and Primigravid Dairy Heifers. *J Dairy Sci* 73(1):107-114.
- TSCHISCHKALE R. (2002). Eutergesundheit - Kontagiöse Mastitiden. *Nutztierpraxis Aktuell*, Ausgabe 3.
- VAN DAMME D. M. (1982). Mastitis caused by contaminated teat dip and dip cup. *Vet Med* 541–545.
- VERDIER-METZ I., V. MICHEL, C. DELBÈS and M.-C. MONTEL. (2009). Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk? *Food Microbiol* 26(3):305-310.
- VERSALOVIC J., T. KOEUTH and J. R. LUPSKI. (1991). Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res* 19(24):6823-6831.
- WAAGE S., T. MORK, A. ROROS, D. AASLAND, A. HUNSHAMAR and S. A. ODEGAARD. (1999). Bacteria Associated with Clinical Mastitis in Dairy Heifers. *J Dairy Sci* 82(4):712-719.
- WALLHÄUSER K. H. 1988. Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Keimidentifizierung, Betriebshygiene. Thieme, editor. Stuttgart/New York 211-360, 475.
- WENDT K., H. BOSTEDT, H. MIELKE and H.-W. FUCHS. (1994). Euter- und Gesäugekrankheiten. Gustav Fischer Verlag Jena,Stuttgart.
- WENDT K., K.-H. LOTTHAMMER, K. FEHLINGS and M. SPOHR. (1998). *Handbuch Mastitis*. Kamlage Verlag.
- WENDT K. B., H.; MIELKE, H.; FUCHS, H.-W. . (1994). Euter- und Gesäugekrankheiten. Gustav Fischer Verlag, Jena/Stuttgart.
- WESTFALL G., L. S. HINKLEY, W. H. DANIELS and J. DECLOUX. (1987). Controlling mastitis with an aerosol teat disinfectant. *Vet Med*, 752-755.
- WHITE D. G., R. J. HARMON, J. E. MATOS and B. E. LANGLOIS. (1989). Isolation and identification of coagulase-negative *Staphylococcus* species from bovine body sites and streak canals of nulliparous heifers. *J Dairy Sci* 72(7):1886–1892.

WINICOV M. (1982). Diluted povidone - iodine kills bacteria faster. Hosp Infect Control 9(1):1-3.

ZADOKS R. N., H. G. ALLORE, H. W. BARKEMA, O. C. SAMPIMON, G. J. WELLENBERG, Y. T. GROHN and Y. H. SCHUKKEN. (2001). Cow- and Quarter-Level Risk Factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* Mastitis. J Dairy Sci 84(12):2649-2663.

## 10. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich allen die zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben, ganz herzlich danken.

Insbesondere dem Referenten Prof. Dr. M. Hässig möchte ich für die Überlassung des Themas, die stets gewährte freundliche Unterstützung und Betreuung und für das immer prompte Korrekturlesen ganz herzlich danken.

Im Weiteren gehört mein Dank

Herr Prof. Dr. R. Stephan für die Übernahme des Korreferats und seinem Team vom Institut für Lebensmittelsicherheit und –hygiene der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich für die mikrobiologische Identifizierung und Charakterisierung der Erreger,

Herr Professor Dr. Dr. h. c. U. Braun für die Anstellung auf der Ambulatorischen Abteilung des Departements für Nutztiere der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich,

Frau Dr. med. vet. D. Kemper-Gisler für die jederzeit freundliche Unterstützung meiner Arbeit,

den Kunden der Ambulatorischen Klinik, welche mir ihre Kühe zur Verfügung gestellt haben, für das entgegengebrachte Vertrauen und die freundliche Unterstützung meiner Dissertation,

meinen Angehörigen für das Korrekturlesen des Manuskriptes und meinem Freund für die stets liebevolle Unterstützung.

## **LEBENS LAUF**

### **Simona Maria Sigrist**

22. August 1981	Geboren in Locarno (TI)
1987 – 1992	Primarschule in Locarno (TI)
1992 – 1996	Sekundarschule in Losone (TI)
1996 – 1999	Gymnasium Maturität Typ C in Locarno (TI)
1999 – 2006	Studium der Veterinärmedizin an der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich
2006 – 2007	Staatsexamen und diverse Veterinärmedizinische Praktika an der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich
2007 – 2009	Assistentin und Doktorandin am Departement für Nutztiere der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich
Seit Januar 2010	Assistentin in der Tierarztpraxis Linth AG, Tuggen (SZ)